

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Teoretická a evoluční biologie



Mgr. Jana Hájková

**Proměny pojetí genu v první polovině 20. století**

**Changes of the gene concept in the first half of the 20th century**

Disertační práce

Školitel: prof. RNDr. PhDr. Zdeněk Neubauer, CSc.

Praha 2012

## **Poděkování**

Za upřímný zájem o téma práce, za cenné rady a nezměrnou trpělivost děkuji svému školiteli prof. Zdeňku Neubauerovi. Mé poděkování patří i všem členům katedry, jejichž nápady a podněty přispěly k vylepšení práce, zejména pak doc. Antonu Markošovi za kritické pročtení velké části disertace. V neposlední řadě chci poděkovat své rodině za její podporu po celou dobu mého studia.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci sepsala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 19. 11. 2012

---

Jana Hájková

## **Abstrakt**

Předložená disertační práce ukazuje různá pojetí genu od vzniku genetiky roku 1900 do poloviny 50. let 20. století. Těžiště jejího zájmu spočívá ve 40. letech a v první polovině 50. let. Hlavním zdrojem informací byly dobové odborné články, v nichž se autorka snažila podchytit jak obecně přijímaný náhled na gen a genové působení, tak představy, které se sice bezprostředně neprosadily, nicméně které se v pozdější době směřující k molekulární genetice mohly stát pro svoji „neortodoxnost“ inspirativními.

Práce dokumentuje mj. hledání souvislostí mezi geny a enzymy a úvahy o dělitelnosti genu. Obzvlášť významnou roli připisuje jevům, které poukázaly na význam uspořádání genů, případně jejich částí (poziční efekt, pseudoalelismus, subgenová hypotéza). V Goldschmidtově výkladu pseudoalelismu nachází myšlenku, že podstatou genu je jeho pozice, a vidí v ní prvopočátek „digitálního“ smýšlení o genu, které je vlastní vznikající molekulární genetice. Disertace věnuje pozornost také „analogovému“ uvažování o genech, které zohledňovalo tvarovost molekul a které v očích rané molekulární genetiky představovalo slepou uličku.

Práce do značné míry potvrzuje Kuhnovu představu o vývoji vědeckého oboru. Nalézá ustanovení paradigmatu (znovuobjevení a ocenění Mendelova díla), klasickou genetiku první třetiny 20. století ztotožňuje s normální vědou, zachycuje i hromadění anomálií a pokusy o jejich vysvětlení. Od Kuhnova scénáře se odchyluje v tom, že prosazení molekulární genetiky nechápe jako zvrát vyplývající z předchozího vývoje genetiky, ale jako změnu vnesenou zvenčí. Nástup molekulární genetiky proto nepokládá za skutečnou vědeckou revoluci.

## **Abstract**

This dissertation shows various concepts of the term gene that have appeared since the birth of genetics in 1900 up to the first half of the 50s. It focuses especially on the 40s and the beginning of the 50s. Scientific papers from that period were the main source of information. The author tried to capture not only generally accepted notions about genes and genic action but also those that had not pushed through in those days, nevertheless, that had offered a non-standard point of view which could have later become inspirational for molecular genetics.

The work documents searching for links between genes and enzymes or ideas of potential divisibility of the gene. The dissertation assigns a very important role to those phenomena that emphasized the significance of the gene order or the order of genic parts. In Goldschmidt's interpretation of pseudoallelism the author sees the thought that the essence of a gene is its position and considers this the beginnings of „digital“ thinking about the gene. The dissertation pays attention to „analogue“ thinking about the gene, as well. This thinking took account of molecular shaping and represented a blind alley for the early molecular genetics.

The work confirms to a certain extent the Kuhnian vision of the development of scientific disciplines. It finds the establishment of the paradigm (the appreciation of Mendel's work) and describes the period of normal science (classical genetics), accumulation of anomalies and efforts to explain them. It deviates from Kuhnian scenario just in one point. The enforcement of the molecular genetics is not regarded a typical scientific revolution. It is assumed to be rather a change that has been introduced from the outside than a turn arising from the previous development of genetics.

## Obsah:

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 1.     | <b>Úvod</b> .....  | 7  |
| 1.1.   | Téma a cíl práce, její prameny .....   | 7  |
| 1.2.   | Studium dědičnosti ve 2. polovině 19. století a klasická genetika v letech 1900–1930 ..... | 10 |
| 1.3.   | Struktura práce .....  | 17 |
| 2.     | <b>Od genu k fenotypu. Představy o působení genů v době klasické genetiky</b> .....        | 20 |
| 2.1.   | Geny a enzymy – okrajové snahy genetiků vysvětlit, jak působí klasický gen .....           | 20 |
| 2.2.   | Geny a enzymy v teorii L. T. Trolanda .....  | 24 |
| 2.3.   | Další teorie rané genetiky spojující geny s enzymy .....                                   | 28 |
| 3.     | <b>Mendelovská notace a pojetí faktoru</b> .....   | 35 |
| 3.1.   | Zápis křížení podle G. Mendela .....   | 35 |
| 3.2.   | Mendelovská notace očima T. H. Morgana .....   | 37 |
| 3.2.1. | Křížení mutantů octomilky .....  | 37 |
| 3.2.2. | Morganovy výhrady vůči mendelovskému zápisu .....  | 40 |
| 3.2.3. | Morganova úprava zápisu .....  | 41 |
| 3.3.   | Reakce na Morganův návrh.....  | 42 |
| 3.4.   | Pojetí jednotky druhového znaku a faktoru v rané genetice .....                            | 45 |
| 4.     | <b>Jevy odporující vztahu jeden znak – jeden faktor</b> .....                              | 51 |
| 4.1.   | Interakce genů .....   | 51 |
| 4.2.   | Pleiotropie .....  | 54 |
| 5.     | <b>Subgenová hypotéza</b> .....  | 60 |
| 5.1.   | Základní poznatky o lokusu <i>scute</i> .....  | 60 |
| 5.2.   | Představa genu očima subgenové hypotézy .....  | 62 |
| 5.3.   | Pohnutky vedoucí ke studiu lokusu <i>scute</i> .....                                       | 65 |
| 5.4.   | Teorie blízké subgenové hypotézy .....   | 65 |
| 5.5.   | Kritika subgenové hypotézy .....   | 68 |
| 5.5.1. | Reakce A. H. Sturtevanta a J. Schultze .....   | 68 |
| 5.5.2. | Reakce H. J. Mullera .....   | 69 |
| 6.     | <b>Význam mutací pro rozumění genu</b> .....   | 72 |
| 6.1.   | Původní význam slova mutace .....  | 72 |
| 6.2.   | Spory o význam mutační teorie v klasické genetice .....                                    | 74 |

|        |   |     |
|--------|---|-----|
| 6.3.   | První klasifikace mutací .....  | 76  |
| 6.4.   | Vztah mezi mutací a nerovným <i>crossing-overem</i> , kvantitativní povaha mutací ..... | 77  |
| 6.5.   | Zpětné mutace .....   | 83  |
| 6.5.1. | Odlišení supresí .....  | 84  |
| 6.5.2. | Výklady supresí .....   | 85  |
| 6.6.   | Transpozice .....   | 88  |
| 6.6.1. | Výzkum transpozice B. McClintockové .....   | 88  |
| 6.6.2. | Goldschmidtova reakce na objevy McClintockové .....                                     | 91  |
| 7.     | <b>Stabilita genu a pojetí mutací inspirované enzymologií</b> .....                     | 94  |
| 7.1.   | Sledování frekvence vzniku mutací .....   | 94  |
| 7.2.   | Stadler: Pracovní vymezení mutace jako nezbytná podmínka definování genu .....          | 97  |
| 7.3.   | Pojetí mutací inspirované enzymologií .....   | 100 |
| 8.     | <b>Pseudoalelismus</b> .....  | 108 |
| 8.1.   | Pojem pseudoalela .....   | 109 |
| 8.2.   | Dvě hlavní pojetí pseudoalel .....  | 112 |
| 8.3.   | Lewisovo genetické pojetí pseudoalel a <i>cis-trans</i> test .....                      | 115 |
| 8.4.   | Benzerův výzkum jemné struktury genu .....  | 117 |
| 8.5.   | Pseudoalelismus a představy o genovém působení .....                                    | 119 |
| 8.6.   | Alternativní (funkční) pojetí pseudoalel .....  | 123 |
| 8.7.   | Goldschmidtovy názory na gen .....  | 124 |
| 8.8.   | Pseudoalelismus očima statické a dynamické „filosofie“ .....                            | 128 |
| 8.9.   | Význam pseudoalelismu .....   | 130 |
| 9.     | <b>Specifičnost a templát očima imunologie a genetiky</b> .....                         | 134 |
| 9.1.   | Výchozí představy o antigenech a protilátkách .....                                     | 136 |
| 9.2.   | Teorie vzniku protilátek .....  | 137 |
| 9.3.   | Tvorba protilátek a představa templátu .....  | 141 |
| 9.4.   | Vztah protilátky a antigenu – představa specifičnosti .....                             | 144 |
| 9.5.   | Tvarovost ve vysvětlování proteosyntézy .....   | 147 |
| 10.    | <b>Diskuse</b> .....  | 150 |
| 11.    | <b>Použitá literatura</b> .....   | 162 |

# 1. Úvod

Dvacáté století bylo dobou mnoha převratných událostí politických i vědeckých. Nejen v politické rovině se do dějin nesmazatelně zapsaly obě světové války, výrazný milník ve vědeckém bádání představovala například teorie relativity či kvantová fyzika. Dvacáté století bylo ale také věkem genetiky, přičemž vzpomínka na ni byla do jisté míry zastřena genetikou molekulární, která si získala velký vliv a pozornost po druhé světové válce.<sup>1</sup> Tato práce se věnuje právě genetice první poloviny 20. století, ukazuje vývoj pojetí genu v této době a obtíže, s jakými byl tento základní genetický pojem budován.

## 1.1. Téma a cíl práce, její prameny

Přijetí nových metod a nástrojů je spjaté se změnami v chápání termínů, kterými pozorované jevy popisujeme. V polovině 20. století jde ruku v ruce s molekulárně pojatou genetikou nový pohled na gen a další stěžejní pojmy. Navzdory svému názvu molekulární genetika z původního genetického smýšlení mnoho nepřevzala a ne zcela docenila bohatství nápadů a myšlenek předchozích desetiletí. Tato práce chce připomenout změny v chápání genu (a dalších genetických pojmů), které nastupující molekulární genetice předcházely. Významné místo zde zaujímají rané pokusy o vysvětlení genového působení, což je téma, o které vzrostl zájem až se vznikající molekulární genetikou.

Historické práce věnující se genetice často ukazují, jak se z genu v polovině 20. století stal obtížně uchopitelný pojem, jehož význam závisí na kontextu.<sup>2</sup> Genetikové se v této situaci snaží upravit terminologii, zavést jednoznačnou definici genu, případně slovo gen přestat užívat.<sup>3</sup> Nejednotnost ve vymezení genu je v době jeho „molekularizace“ velmi nápadná, rozhodně však nejde o zcela novou situaci. Při bližším pohledu na genetiku první poloviny

---

<sup>1</sup> Proměna biologického bádání, k níž došlo po druhé světové válce, souvisí s rozvojem molekulární biologie. Název molekulární biologie pochází od W. Weavera, který tak v roce 1938 označil využívání nových fyzikálních technik (například radioaktivních izotopů nebo rentgenového záření) pro výzkum živého. Spíš než novou disciplínu představovala molekulární biologie nový přístup k organismu, který během následujících desetiletí pronikl prakticky do všech oblastí biologie. (Weaver, W. Molecular biology: Origin of the Term. *Science*, 1970, 170: 591–592.)

<sup>2</sup> Viz například Waters, C. K. Genes Made Molecular. *Philosophy of Science*, 1994, 61 (2): 163–185.

<sup>3</sup> Beadle, G. W. What Is a Gene? *AIBS Bulletin*, 1955, 5 (5): 15–15.

Objevuje se ale i názor, že víceznačnost pojmů může být přínosná. (Fox-Keller, E. Making Sense of Life. Cambridge, Massachusetts and London, England, Harvard University Press, 2003, ISBN 067401250X.

20. století je vidět, že už tehdy vedle sebe existovaly různé názory na povahu genu. Nejednoznačnost pojmu gen byla v genetice přítomna i dříve, pouze při „molekularizaci“ genu vyšla zřetelně najevo.

Období klasické genetiky<sup>4</sup> je, zpětně viděno, homogenní a pojetí klasického genu jako jednotky transmise a kombinace, která byla zároveň pokládána za jednotku mutace a funkce, jednoznačné a všemi přijímané.<sup>5</sup> Jde však o pouhé zdání, bližší zkoumání ukazuje nejednotnost genetiků a rozmanitost jejich názorů. Cílem této disertace je doložit dosti přehlíženou pestrost úvah o genu v první polovině 20. století.

Studované období bychom mohli poměrně široce vymezit rokem 1909, kdy pojem gen vznikl, a první polovinou 50. let, kdy byla prozkoumána struktura DNA. Stěžejní místo zaujímají 40. léta a počátek 50. let, kdy se pohled na gen nejvíce proměnil a naznačil nové směřování genetiky. Časově i tematicky navazuje tato disertace na diplomovou práci autorky, která popisovala vybrané teorie dědičnosti ve druhé polovině 19. století.<sup>6</sup> Zatímco tehdejší badatelé se zabývali dědičností (předáváním vlastností z rodičů na potomky), v centru zájmu genetiků 20. století se ocitl gen (nositel těchto vlastností).

Disertace vychází téměř výhradně z dobové primární literatury, neboť je jejím cílem sledovat významové nuance slova gen. Jedná se především o odborné články z časopisů typu *The American Naturalist*, *Science* apod. Tyto články velmi dobře ukazují, jaká problematika je v dané době aktuální, a umožňují si tak utvořit představu o stavu tehdejšího bádání. (Články bývají dostupné i v elektronických archivech, jako je například [www.esp.org](http://www.esp.org) nebo [www.jstor.org](http://www.jstor.org).) Dále se tato práce opírá o sborníky z konferencí. Konference představují setkání, na nichž mohou vědci horlivě debatovat a vyjasňovat si navzájem svoje stanoviska. Až v další řadě stojí monografie, které neodrážejí rozpory mezi vědci tak ostře jako konferenční sborníky. Veškerá citovaná literatura je uvedena v seznamu použité literatury na konci disertace, v poznámkách pod čarou jsou navíc odkazy na literaturu, o kterou se text přímo neopírá, ale která s ním souvisí a čtenář si ji může v případě zájmu vyhledat.

---

<sup>4</sup> Označení klasická genetika používá autorka ve shodě s P. Portinem pro dobu mezi rokem 1900 a 30. léty 20. století včetně. (Portin, P. The concept of the gene: short history and present status. *The Quarterly Review of Biology*, 1993, 68 (2): 173–223.)

<sup>5</sup> Pokud gen příslušející určitému znaku pochopíme jako to, co když se změní, změní daný znak, je jeho závislost na kontextu zřejmá. Vždy totiž záleží na tom, jakého znaku si všímáme a jak pojmáme jeho změny. (Waters 1994)

<sup>6</sup> Hájková, J. Teorie dědičnosti a koncepce druhu v díle Ch. Darwina, A. Weismanna a H. de Vriesa: diplomová práce. Praha: Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, 2006, 94 l., vedoucí diplomové práce Jan Havlíček.



Ve valné většině případů jde o anglicky psanou literaturu. Stěžejní publikace z genetiky první poloviny 20. století totiž byly psány anglicky, a to často i v případě autorů jiné národnosti. Navíc už tehdy významnější studie napsané původně jiným jazykem vycházely v anglickém překladu. Právě v tomto jazykovém prostředí se posléze zformovala molekulární genetika a zrodily se zde pojmy, které ji ovlivnily a které jsou předmětem této disertace.<sup>7</sup>

Rozvoj a úspěchy genetiky ve 20. století představují z hlediska dějin vědy vděčné téma, o čemž svědčí množství historických prací. Samotnému vzniku moderní genetiky se věnuje V. Orel<sup>8</sup>, který rozebírá znovuoobjevení Mendelova díla a jeho přijetí na počátku 20. století. Z mnoha autorů, kteří se zabývají dějinami molekulární genetiky a událostmi, které s jejím vznikem souvisely, lze vřele doporučit následující: H. F. Judsona, R. Olbyho, S. de Chadarevian, J. Sappa, L. Kay, M. Morangeho, E. Fox-Kellerovou, H.-J. Rheinbergera.<sup>9</sup> Menší časový odstup od popisovaných událostí mají dějiny genetiky A. H. Sturtevant a E. A. Carlsona.<sup>10</sup> Velkou pozornost odborné i laické veřejnosti přitáhlo líčení objevů struktury DNA v autobiograficky laděné knize J. D. Watsona.<sup>11</sup> Na rozdíl od uvedených děl se

---

<sup>7</sup> Případné odlišnosti ve smýšlení německých či francouzských genetiků stály mimo oblast zájmu této práce. Jak ostatně ukazuje Stanislav Komárek, rozdíly mezi národními školami, které byly nápadné ve vědách o živém v 19. století, v genetice 20. století slábnou, až se ztrácejí. (Komárek, S. Dějiny biologického myšlení. Praha, Vesmír, 1997, ISBN 80-85977-10-9.)

<sup>8</sup> Orel, V. Gregor Mendel: The First Geneticist. Oxford, Oxford University Press, 1996, ISBN 0-19-854774-9. (V českém vydání Orel, V. Gregor Mendel a počátky genetiky. Praha, Academia, 2003, ISBN 80-200-1082-3.)

<sup>9</sup> Judson, H. F. The Eighth Day of Creation: Makers of the Revolution in Biology. London, Penguin, 1979, ISBN 0-671225405. Kay, L. Who Wrote the Book of Life?: A History of the Genetic Code. Stanford California, Stanford University Press, 2000, ISBN 0-8047-3384-8. Morange, M. A History of Molecular Biology. Cambridge Massachusetts, Harvard University Press, 1998, ISBN 0-674-00169-9. Olby, R. The Path to the Double Helix: Discovery of DNA. New York, Dover Publications, 1994, ISBN 0486681173. Rheinberger, H.-J. An Epistemology of the Concrete. Twentieth-century Histories of Life. Durham & London, Duke University Press, 2010, ISBN 0822345757. Fox-Keller, E. The Century of the Gene. Cambridge Massachusetts, Harvard University Press, 2000, ISBN 0-674-00372-1. Sapp, J. Beyond the Gene: Cytoplasmic Inheritance and the Struggle for Authority in Genetics. New York, Oxford University Press, 1987, ISBN 0195042069. de Chadarevian, S. Designs for Life: Molecular Biology After World War II. Cambridge, Cambridge University Press, 2002, ISBN 0521570786.

<sup>10</sup> Sturtevant, A. H. A History of Genetics. New York, Harper and Row, 1965. Carlson, E. A. The Gene: A Critical History. Philadelphia and London, Saunders Company, 1966.

<sup>11</sup> Watson, J. D. The Double Helix: A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA. London, Weidenfeld and Nicolson, 1968. (V českém vydání Watson, J. D. Tajemství DNA. Praha, Academia, 1995, ISBN 80-200-0556-0.)

tato práce nesnaží v molekulární genetice vidět přímé pokračování vývoje klasické genetiky. Chce zde připomenout, jak důležité bylo pro klasické genetiky pátrat po povaze genu. Jejich snaha dobrat se prostředky klasické genetiky k jeho podstatě však vedla k rozmělnění genu. Toto téma ztratilo svůj význam a molekulární genetické se zaměřili na jiné problémy.

Následující část úvodu přibližuje, jak vypadaly vlivné představy o dědičnosti ve druhé polovině 19. století a jaký byl převažující pohled na gen v prvních třech desetiletích 20. století. Společně s další pasáží čtenáři tento přehled naznačí, jaké místo v dějinách genetiky zaujímají témata, kterým se tato disertace dále věnuje.

## **1.2. Studium dědičnosti ve 2. polovině 19. století a klasická genetika v letech 1900–1930**

Pod slovem dědičnost se ve druhé polovině 19. století rozumělo podobné utváření vlastností u potomků jako u rodičů. Zájem o dědičnost projevovali především embryologové, nicméně k poznávání dědičnosti velmi přispívali nestudovaní chovatelé domácích zvířat a šlechtitelé rostlin. Jejich pozorování si považovali a ve svých teoriích je zohledňovali i ti nejvýznamnější vědci. Ve svém slavném díle z roku 1859 se o zkušenosti chovatelů opírá i Ch. Darwin, mj. říká, že se děděné zvláštnosti objevují u rodičů i jejich potomků ve stejném vývojovém stadiu.

Teorie dědičnosti z 19. století ve velké míře spočívaly na spekulativních představách. Velmi vlivná byla teorie A. Weismanna z roku 1892, která předpokládá existenci **zárodečné plazmy**, dědičné substance předávané z generace na generaci. Weismann podrobně rozpracovává její hierarchické uskupení, které mu umožňuje vysvětlit předávání dědičné látky (přenos znaků na potomky předáváním idioplazmy zárodečných buněk). Weismannovy představy, jako například předpokládané kvalitativní změny v idioplazmě při dělení jader, jsou sice inspirující, ale nejsou podložené. Na Weismannově teorii můžeme ukázat i další rys typický pro úvahy o dědičnosti v této době – spojování problematiky dědičnosti s vývojem jedince. (Při diferenciaci buněk podle Weismanna dochází k jejich ochuzování o části zárodečné plazmy. Úplná zárodečná plazma zůstává zachována pouze v určitém sledu buněk zvaném zárodečná linie.<sup>12)</sup> V tomto ohledu se genetika významně odlišuje, o vývoji znaků

---

<sup>12</sup> Weismann předpokládá existenci tzv. bioforů. Jde o jednotky zárodečné plazmy, které reprezentují nezávisle proměnné znaky (od embrya počínaje). Podle Weismanna tvoří skupina bioforů jednotku vyššího řádu, tzv. determinant, skupina determinantů tvoří id. Při dělení buněk, které je podstatou ontogeneze, má docházet

u jedince totiž mlčí.

Weismannem předpokládaná existence zárodečné linie s sebou nese popření dědičnosti získaných vlastností. (Změna, která ovlivní pouze buňky těla a nikoliv zárodečnou linii, nemůže být předána potomkům. Jde o tzv. weismannovskou bariéru, která odděluje zárodečné a somatické buněčné linie.) Rozšíření tohoto přesvědčení významným způsobem připravilo půdu pro přijetí Mendelova díla.

Spojovací článek mezi studiem dědičnosti v 19. a ve 20. století můžeme vidět v díle H. de Vriese. (První vydání jeho intracelulární pangeneze je z roku 1889, první vydání mutační teorie z let 1901–1903.) Podstatu dědičnosti spatřuje de Vries v tom, že se v potomcích vyskytují stejné **pangeny** (dědičné částice) jako v jejich rodičích. (De Vries převzal pojem pangen od Darwina, který tak označoval domnělé dědičné jednotky. Teorie obou badatelů se proto nazývají pangeneze. Na rozdíl od Darwina však de Vries předpokládá, že dědičné jednotky nemohou putovat organismem. Protože jednotky neopouštějí buňku, hovoří o intracelulární pangenezi.) De Vries se domnívá, že jsou v různých jedincích jednotlivé pangeny různě zastoupeny, což podle něj vysvětluje jejich rozdílné vlastnosti. Potomek se víc podobá tomu rodiči, jehož pangeny v něm převažují. (De Vriesovy úvahy o dědičnosti dobře ilustrují následující představy: Vlastnost zůstává latentní, říká de Vries, disponuje-li jedinec malým počtem příslušných pangenů. Když se vlivem vnějších podmínek tyto pangeny pomnoží, znovu se tato vlastnost objeví. Výraznou vlastnost přičítá de Vries velkému množství příslušných pangenů, nenápadnost vlastnosti malému počtu. Když se určité pangeny vyvíjejí živelněji, dochází k diferenciaci orgánu. Pangeny, které převažují, totiž podle de Vriese udávají celkový charakter buňky.)

Představa, že počet pangenů určuje, zda bude příslušná vlastnost výrazná či nenápadná, se velmi liší od mendelistického pohledu. Vlohy (*Anlagen*), označované v anglické literatuře jako faktory, byly pojaté jako kombinatorické jednotky. (Každou vlastnost reprezentovala dvojice těchto faktorů.) S ohledem na pozdější vývoj genetiky však na de Vriesově teorii musíme ocenit názor, že ovlivňování vývoje prostřednictvím pangenů a jejich zmnožování spolu úzce souvisí. Velmi zajímavá je také představa, že produkt genu je velice podobný genu samému a že putuje z jádra do protoplazmy, kde vykonává patřičnou funkci. Při dobré vůli v něm můžeme vidět předzvěst transkripce a přesunu mRNA z jádra do cytoplazmy.

---

k dezintegraci idů na dvě poloviny determinantů. V dalším ontogenetickém stadiu se tato polovina determinantů opět půlí, až nakonec v poslední buňce této buněčné linie zůstává jediný determinant, který se rozpadá na biofory. (Weismann 1893, s. 85)

Weismann na některých místech dokonce hovoří o tzv. ontogenetických stádiích idioplazmy.

V neposlední řadě se de Vries nepřímou zasloužil o pojem gen. Z jeho teorie totiž W. Johannsen vzal (původně Darwinovo) slovo pangen a v roce 1909 jej zkrátil na gen, který se stal stěžejním pojmem genetiky.

De Vries se zapsal do dějin genetiky i znovuoobjevením Mendelova díla, které ve stejné době nezávisle na něm vyzdvihli také E. Tschermak a C. Correns.<sup>13</sup> Psal se rok 1900 a právě tento letopočet a tuto událost můžeme považovat za počátek genetiky. S genetikou zájem o vztah mezi dědičnými jednotkami a vývojem znaku ochaboval a dědičnost začala být pojednávána odděleně od ontogenetického vývoje. (Jak ukáže tato práce, jen nemnoho genetiků problematiku ontogenetického vývoje znaků připomínalo.) Místo způsobu, jak se v ontogenezi jednotlivé vlastnosti utvářejí, se řešilo předávání podkladu (vloh, faktorů, resp. genů) pro vznik příslušných vlastností u potomka. Genetika se zaměřila na formalizaci distribuce těchto jednotek a dědičnost byla spojována s výčtem dědičných jednotek. Pro toto nové pojetí dědičnosti, podle něhož se u předků a jejich potomků očekává přítomnost stejných genů, zavádí W. Johannsen (1911) označení **genotypová dědičnost**. Starší pojetí, podle kterého spočívá dědičnost ve skutečném předávání osobních kvalit z předka na potomka, nazývá **transmisní dědičností**.

Slovem **gen** neoznačoval Johannsen (1911) nějaký morfologický útvar – determinant dědičných vlastností, ale početní jednotku vhodnou pro vyhodnocování výsledků křížení (*Rechnungseinheit*). Výše uvedený termín **genotyp** užíval pro souhrn všech těchto genů v buňce. Upozorňuje dokonce, že se genotyp nedá předvést jako takový, ale je možné ukázat rozdíly mezi jednotlivými genotypy.<sup>14</sup>

Genetika si poměrně rychle vybudovala mezi vědeckými obory silné postavení a nově zavedené pojmy záhy pronikly i mimo odbornou literaturu. Nové (genotypové) pochopení dědičnosti zmiňuje například slovník *New Standard Dictionary of the English Language* (1914). Na základě doporučení G. H. Shulla v něm bylo původní znění hesla dědičnost (*heredity*) jako „tendence vykazované organismem vyvinout se do podoby svých předků“

---

13 de Vries, H. Sur la loi de disjonction des hybrides. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences (Paris)*, 190 (130): 845–847. Correns, C. G. Mendels Regel über das Verhalten der Nachkommenschaft der Rassenbastarde. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 1900, 18: 158–168. Tschermak, E. Über Künstliche Kreuzung bei *Pisum sativum*. *Berichte der Deutsche Botanischen Gesellschaft*, 1900, 18: 232–239.

<sup>14</sup> Význam slova genotyp přirovnává k Woltereckově termínu *Reaktionsnorm*. (Woltereck R. Weitere experimentelle Untersuchungen über Artveränderung. *Verhandlungen der deutschen zoologischen Gesellschaft*, 1909, 19: 110–173.)

nahrazeno formulací, že jde o „rozložení genotypových elementů předků mezi potomky, podobnost organismu s rodiči a předky v genotypové konstituci.“ (Shull 1915, s. 56)<sup>15</sup>

Kromě genu a genotypu se Johannsen zasloužil ještě o termín **fenotyp**, který označoval výsledek spolupůsobení vloh a prostředí v průběhu vývoje jedince. Slovem fenotyp nazýval z křížení „statisticky vystupující způsob projevu.“ (Johannsen 1909, s. 23) Jako synonymum pro fenotyp používal označení *Erscheinungstypus* (přeložitelné jako „zjevný typ“).

Geny, jejichž předávání klasické genetiky zajímalo, nebyly dostupné přímo. Veškerým zdrojem informací o nich bylo právě sledování fenotypu rodičů a potomků. Genetikové se opírali o to, že genové rozdíly způsobují fenotypové rozdíly, tedy že přítomnost určitého znaku signalizuje přítomnost určitého genu. Jevy, které badatelům geny zpřístupňovaly, byly nejdříve přirozená variabilita (křížení odrůd), později spontánní a indukované změny genů (mutace), které se projevíly změnou fenotypu. (O obtížích i úspěších zkoumání mutací pojednává několik kapitol této práce.)

Genetické pokusy vycházely z předpokladu, že je znak podmíněn příslušným genem. Takto pojatý vztah jednoho genu ku jednomu znaku byl silně zjednodušený, což genetikové připouštěli. Nicméně pro praxi bylo toto zjednodušení velmi výhodné, a proto složitější situace, které ho zpochybňovaly (například pleiotropní působení či genové interakce), byly odsouvány stranou. Jevů neslučujících se s pohledem „jeden gen – jeden znak“ si genetika po jistou dobu nevšímala, postupně si však vyžádaly její pozornost. (Souvisejícím tématům se věnuje třetí a čtvrtá kapitola této práce.)

Mezi lety 1900 a 1930 se můžeme setkat s různými názory na podstatu genu, ale ať už byl gen pokládán za cokoli, jednotně se mu připisovalo zásadní postavení v řízení buňky. Gen měl v klasické genetice mj. následující vlastnosti: Byl stabilní, umístěný na chromozomu, měl schopnost působit, reprodukovat se a při tom ještě dělat svoji práci. E. Fox-Kellerová vystihla tuto situaci slovy, že klasický gen byl „částečně fyzikův atom a částečně platonskou duší“. (Fox-Keller 2000, s. 47)

Uvedené vlastnosti připisované genům jim propůjčovaly schopnost řídit a vedly k přesvědčení, že je gen organismus. Genetikové se snažili od těchto pohodlných

---

<sup>15</sup> „The tendency manifested by an organism to develop in the likeness of a progenitor.“ (Shull 1915, s. 56)

„The distribution of genotypic elements of ancestors among the descendants, the resemblance of an organism to its parents and other ancestors with respect to genotypic constitution.“ (Shull 1915, s. 56)

Shullovi na původní podobě hesla zřejmě vadilo slovo tendence, nicméně ve svém komentáři chyb ve slovníku se omezuje na konstatování, že dědičnost musí být definována natolik široce, aby mohla zahrnout i vlastnosti, které žádný předek nevykazoval.

a nevědeckých představ distancovat. Ve výsledku na vysvětlení genového působení rezignovali. Gen zůstal uzavřen v nepřístupné a neprůhledné „černé skříňce“ (*black-box*), na jejíž obsah bylo možno usuzovat jen na základě vztahu vstupů a výstupů. Genetikové při kříženích sledovali pouze fenotyp křížených a narozených jedinců a ze získaných poměrů vyvozovali principy dědičnosti.<sup>16</sup> Jen někteří z nich, například T. H. Morgan (1926), nahlas upozorňovali, že dříve či později bude třeba zodpovědět i dosud opomíjenou otázku, jak je určitý znak propojen s dědičnou jednotkou.

Naštěstí se uplatnil i přístup cytologický. Párování a rozestupování chromozomů při dělení jader napovídaly, co se uvnitř černé skříňky děje. O jejím umístění v jádře už bylo rozhodnuto. Případnou existenci „dědičných proteinů“, které by byly přítomny výhradně v cytoplazmě, genetické s poukazem na identické výsledky recipročních křížení odmítali a cytoplazmy si nevšíмали. (Ze zkoumání chromozomů vyplývaly i úvahy o chemismu genu. Nejčastěji mu byla připisována proteinová povaha. Poznatky o proteinech poskytla biochemie a enzymologie, které bude věnována pozornost v sedmé kapitole.)

V klasické genetice se ujalo obecné přesvědčení, že má genová aktivita biochemickou povahu a že bude časem potřeba prozkoumat chemické reakce mezi genem a jeho koncovým produktem. (Za produkty genů se často považovaly pigmenty, karbohydráty či jiné složité molekuly.) S ohledem na neznalost chemismu genového materiálu však tato analýza nebyla možná, a proto v první třetině 20. století najdeme jen neumělé snahy vysvětlit, jak geny působí. (O nich referuje druhá kapitola disertace.)

Klasická genetika tedy přispěla ke studiu ontogenetického vývoje znaků jen myšlenkou, že jakékoliv úvahy o ontogenetickém vývoji musejí začít u genu. Případné propojení genetiky a vývoje znaků naráželo na několik obtížně pochopitelných nesrovnalostí. Jednou z nich byla diferenciace buněk se stejnými jadernými geny. Některé vědce vedla tato skutečnost k tomu, že vedle neměnných genů předpokládali měnící se plazmu a ontogenetické pochody připisovali negenovým rozdílům mezi buňkami vyvíjejícího se embrya.<sup>17</sup>

---

<sup>16</sup> Příznačné pro tuto dobu bylo sledování transmise morfologických znaků, nikoli fyziologických funkcí. (Sapp 1987) Geny pak byly snáze pokládány za statické a nenutily k úvahám o tom, jak geny působí.

V dobách klasické genetiky také mnohdy nebýval brán zřetel na jasné oddělování genů od jimi určených vlastností. Na geny se pohlíželo spíše jako na determinátory než jako na nástroje produkce. Jistým dokladem této skutečnosti může být užívání pojmu *unit-character*, které toto nedostatečné rozlišování naznačuje. O tomto tématu pojednává blíže kapitola o mendelovské notaci.

<sup>17</sup> Například C. Stern tyto rozdíly mezi buňkami odvozuje od rozrůznění plazmy vajíčka, k němuž dojde ještě před rýhováním. Produkty jaderných genů se mají v buňce prostorově oddělit a tím plazmu rozrůznit. (Stern

Dalším problematickým aspektem působení genů v ontogenezi byla jeho časovanost. Dobové pokusy o vysvětlení správného načasování a seřazení ontogenetických procesů byly zainteresovanými badateli neúprosně kritizovány. Například F. R. Lillie (1927) ukazuje, že se místo vysvětlení leckdy jen předpokládá existence tolika formativních substancí, ke kolika významným událostem ve vývoji dochází. To odmítá jako pouhé pojmenování stěžejních kroků ontogeneze. Jedinou systematickou snahu o sloučení teorie genu a problémů embryonálního vývoje nachází Lillie v práci R. Goldschmidta, která ho však také neuspokojuje. (Goldschmidtovy názory jsou blíže zmíněny v několika dalších kapitolách.)<sup>18</sup>

Jak naznačil předchozí text, v první polovině 20. století nacházíme dva pohledy na dědičnost. Použijeme-li terminologii F. Churchilla (1974), dominantní postavení si získává **dědičnost vertikální**, které se věnují klasičtí genetici. (Jde o sledování přenosu znaků z rodičů na potomka.) Tzv. **horizontální dědičnost**, která spočívá v transformaci dědičných potencialit do struktur a funkcí při vývinu jedince, v této době ustupuje do pozadí.<sup>19</sup> Horizontální pojetí dědičnosti je bližší embryologům. V této souvislosti je zajímavý přerod myšlení T. H. Morgana, který byl sice úzce spjat s genetikou, nicméně původním vzděláním embryolog. Morganův životopisec G. E. Allen soudí, že Morgan opustil horizontální pojetí dědičnosti (tj. přestal dědičnost pojímat jako utváření různých znaků během embryonálního vývoje) až okolo roku 1910, a to pod vlivem W. Johannsena.<sup>20</sup> Ve své práci z roku 1934 se Morgan pokusil propojit genetiku a embryologii, ale musel uznat, že se to nepodařilo.

---

1936, s. 29–33)

<sup>18</sup> Goldschmidt staví na představě, že se každý gen pouští do aktivity měrou odpovídající jakési počáteční, přesně nastavené hodnotě. Druhým pilířem jeho teorie je přesvědčení, že každý gen reaguje na příslušný substrát (v cytoplazmě), který je vždy v patřičnou chvíli na patřičném místě. Jak je ale v ontogenezi zajištěno patřičné místo a patřičný čas, nevysvětluje. Lillie Goldschmidtovi vyčítá, že předpokládá pro znaky všech ontogenetických stadií existenci specifických genů a zároveň latenci všech ostatních genů. Nelíbí se mu deterministický charakter Goldschmidtovy teorie. (Lillie 1927, s. 364–366)

<sup>19</sup> Horizontální dědičností se rozumí vertikální dědičnost na buněčné úrovni. Při pozdějších výzkumech bakterií získalo sousloví horizontální dědičnost jiný význam – označovalo přenos dědičné informace mezi jedinci téže generace.

<sup>20</sup> Podle Johannsena mělo být studium vývoje fenotypu záležitostí embryologie, studium genotypu úkolem genetiky. Zatímco fenotyp pokládal za historickou záležitost (tj. dotýkající se individuálního příběhu), genotyp považoval za ahistorický. (Johannsen 1911) Podle Allena právě rozlišování genotypu a fenotypu pomohlo Morganovi přijmout dědičnost jako transmissi hmotných částic z rodiče na potomky prostřednictvím zárodečných buněk. (Allen 1983, s. 836) Mezi těmi, kteří podobný krok neučinili, byli například W. Bateson nebo R. Goldschmidt. Dramatický obrat ve smýšlení, který Morgan předvedl, byl vskutku výjimečný.

Navzdory svému záměru jen vedle sebe pojednal pohled embryologie a pohled genetiky.

O neschopnosti propojit geny a ontogenetický vývoj vypovídá ve svém díle také W. F. H. Stroer (1936).<sup>21</sup> Ukazuje, že genetické pojímají organismus jako shluk jeho vlastností (*Eigenschaftsaggregat*), což je pohled, jehož prapůvod se dá spatřovat ve Weismannově systematickém uspořádání jednotek na chromozomu. Stroer toto pojetí označuje za morfologické a podotýká, že přes svůj nesporný přínos nijak neprohloubilo naše porozumění životu. Druhý pohled, který vychází z horizontálního (tj. buněčně vertikálního) pojetí dědičnosti a který Stroer nazývá fyziologický, odráží rozpaky embryologů nad tím, že by měla být morfogeneze řízena geny. Právě toto fyziologické pojetí dědičnosti vede některé badatele (například C. Corrense nebo W. E. Castlea) k rozlišování vlastností „jednoduchých“ (mendelujících) a vlastností „formujících orgány“. Zatímco první typ vlastností umísťují do chromozomů, znaky související s utvářením orgánů situují mimo jádro, do protoplazmy.<sup>22</sup> Z této oblasti vychází fyziologická genetika, která se snaží pochopit vztah genotypu a fenotypu.<sup>23</sup> Tento směr vede přes různě propracované úvahy o působení genů, o vztazích s enzymy a s případnými produkty až k **teorii „jeden gen – jeden enzym“** G. Beadlea a E. Tatuma (1941).

Ačkoliv stálo působení genů mimo zájem genetiků, bylo v první polovině 20. století popsáno několik jevů, které genové působení do jisté míry zpřístupňovaly. Jedním z nich bylo účinkování různého množství stejného genu, které naznačovalo, že kvantitativně různě vyvinuté znaky souvisejí s počtem přítomných genů zodpovědných za tvorbu daného znaku. Další možností bylo srovnávání vývoje zygot s odlišnými geny, které poukazovalo na vliv genů na rychlost předpokládaných reakcí. (Oběma tématům se hodně věnoval

---

<sup>21</sup> Podobný postřeh najdeme i v pracích jiných genetiků. (East, E. M. The Distinction between Development and Heredity in Inbreeding. *The American Naturalist*, 1909, 43 (507): 173–181.)

<sup>22</sup> Sám Stroer je k dělení vlastností na „organizační“ a „mendelující“ skeptický. Za zajímavou teorii, která by mohla být výchozím bodem pro vysvětlování organizace, pokládá *Kettenmutationentheorie* H. Friesena (1932). Podle této teorie mutuje celá řada genů, přičemž viditelný výsledek způsobují jen koncové geny této řady. Vezmeme-li tuto řadu mutací za jednotku vyššího řádu, můžeme v ní spatřovat výchozí bod pro vysvětlování organizace. V tomto duchu postupoval mj. L. Plate (1925) ve své *Erbstockhypothese*, kde tyto jednotky nazval radikály. (podle Stroer 1936, s. 64)

<sup>23</sup> Tato práce se přidržuje termínu fyziologická genetika, což je také název stěžejní publikace R. Goldschmidta. (Goldschmidt, R. *Physiological Genetics*. New York, McGraw-Hill Book Co., 1938.) Další možné označení této linie výzkumu je vývojová genetika (*developmental genetics*). V německém prostředí byla snaha vybudovat sjednocenou teorii dědičnosti, která by obsáhla ontogenetický vývoj i evoluci, v rámci tzv. *Entwicklungsmechanik*. (Sapp 1987, s. 53)



R. Goldschmidt, který bude v této disertaci na několika místech připomínán.)

Velký význam pro výklad genového působení mělo také zjištění, že gen přemístěný do sousedství jiných genů má odlišný účinek. Tento jev popsal v roce 1925 A. H. Sturtevant a nazval jej **poziční efekt**. Existence pozičního efektu podkopala předpoklad, že gen funguje bez ohledu na okolnosti, a zproblematizovala dosavadní atomistické pojetí genu. (Představa mendelovského genu jako neměnné podstaty dědičnosti souvisela s netečností genu ve vztahu k jeho dědění.) V pozdější době se objevil další jev, který narušoval ustanovený pohled na dědičnost. Jednalo se o **transpozici**, při jejímž výzkumu B. McClintocková ukázala, že dědičnost může ovlivňovat i aktuální funkce genu. (Těchto témat se týká šestá kapitola.)

Poziční efekt se ve 30. letech využíval k pátrání po podstatě genu. Začínalo se zkoumáním působnosti téhož genu v různých pozicích na chromozomu. V pozdější době, ve 40. a 50. letech 20. století, se ale prosadil výzkum začínající z druhého konce, tj. od prozkoumání pochodů, které vedly k utvoření příslušné vlastnosti. Předpokladem úspěchu tohoto výzkumu bylo využití snadno křížitelných organismů, u nichž se daly snadno kontrolovat jejich biochemické nároky. Tyto požadavky dobře splňovaly mikroorganismy, jejichž využívání ukazuje na nástup molekulární genetiky.

Z výše napsaného je zřejmé, že si klasická genetika v pojednávání genového působení dlouho vystačila s „černou skříňkou“. Její výstupy se zásluhou cytologie postupně stávaly bohatšími. V této linii bádání pokračovali někteří genetikové i v pozdější době. Nicméně jevy, jako byly například poziční efekt, genové interakce či pleiotropie, umožnily dvířka této skříňky pootevřít. Výzkumy, které se jimi zabývaly, můžeme považovat za jakousi odnož směřující k molekulární genetice. Jak ukáže tato disertace, urazili genetikové při zkoumání genového působení kus strastiplné cesty, která nakonec vedla k poznání, že působení genů není chemické, nýbrž informační. Toto zjištění natolik překvapilo, že bylo pro mnohé genetiky obtížné si tuto změnu vůbec připustit. A právě peripetie, které tomuto poznání předcházely (ať už pro něj připravovaly půdu, či naopak ztěžovaly jeho prosazení), nalezne čtenář v následujících kapitolách.

### 1.3. Struktura práce

Klasická genetika se soustřeďovala na využití nových pojmů a přístupů v problematice, pro jejíž potřeby byly tyto pojmy vytvořeny – pro popis křížení a předvídání jejich výsledků. Teprve po jejím vyčerpání vzrostl zájem o témata, která byla těmito nástroji hůře uchopitelná,

jako bylo genové působení. Případné náznaky nové genetiky spjaté s novým pojetím termínů (včetně genu) proto tato práce hledá především tam, kde je vidět snaha vyrovnat se s otázkou, jak geny fungují, lépe než transmisní genetika. Neudržitelnost klasického pojetí genu se naplno projevila ve 40. letech 20. století, které proto pokládáme za dobu utváření molekulární genetiky. (Za symbolický přelom by se dalo zvolit určení chemické povahy genů v roce 1944.<sup>24</sup>)

Práci tvoří osm kapitol, z nichž se každá věnuje vybranému tématu, které souvisí s pojetím genu a vysvětlováním genového působení. Nebylo možné seřadit myšlenky, které proměnily chápání genu, přísně chronologicky. Proto ani jednotlivé kapitoly nejsou zcela chronologické a disertace má spíš charakter sond k dílčím tématům.

Druhá kapitola ukazuje, že i v klasické genetice najdeme teorie, které si všímají horizontální dědičnosti. Text sleduje rané, spekulativní úvahy o vztahu genů a enzymů. Důvody jejich spojování nachází ve vlastnostech, které byly genům i enzymům přisuzované.

Třetí kapitola zprostředkovává pohled do čistě transmisní rané genetiky. Hledá spojitost mezi užívanou mendelovskou notací a představou, že jednomu faktoru (genu) odpovídá jeden znak. Kapitola rozebírá Morganův návrh upravené mendelovské notace, který dokládá jeho nadhled na genetickou problematiku, a ukazuje, že se v Morganově notaci dá vidět připomenutí role, kterou geny sehrávají ve vývoji vlastností jedince.

Čtvrtá kapitola ukazuje, jak probíhalo poznávání pleiotropie a interakcí genů, jevů nezapadajících do pohledu „jeden gen – jeden znak“. Vypovídá mj. o tom, jak studium pleiotropie obohatilo poznání genového působení tím, že podnítilo hledání vývojových vztahů mezi různými účinky jednoho genu.

Pátá kapitola představuje subgenovou teorii, jejíž autoři si dovolili pohlížet na gen jako na *crossing-overem* dělitelnou strukturu. Dělit gen na části bylo v prostředí klasické genetiky odvážné. Kapitola ukazuje, jak subgenová teorie přispěla k ocenění vzájemného postavení genových částí, potažmo uspořádání jednotlivých genů.

Šestá kapitola připomíná mutace, hlavní nástroj výzkumu klasických genetiků. Vyzdvihuje hlavně studium supresních mutací, které přispělo k zavrnutí některých starších názorů (např. pochopení mutantních alelomorf jako ztrát genového materiálu). Suprese také

---

<sup>24</sup> Avery, O., MacLeod, C., McCarty, M. Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types: Induction of Transformation by a Deoxyribonucleic Acid Fraction Isolated from Pneumococcus Type III. *Journal of Experimental Medicine*, 1944, 79 (2): 137–159.<sup>25</sup> Myšlenka, že dědičné determinanty mohou působit jako fermenty (tj. enzymy), najdeme již na sklonku 19. století v práci H. Driesche. (Driesch, H. *Analytische Theorie der organischen Entwicklung*. Leipzig, Engelmann, 1894.)

ukázaly, že lze stejného fenotypu docílit různě, a tím podpořily studium genového působení. Kromě výzkumu mutací je zde pojednán i poziční efekt, který ukazuje na rozpoznání významu kontextu pro fungování genů.

Hlavním tématem sedmé kapitoly je pojetí mutací jako přeuspořádání genové molekuly. Zdůrazňování tvarovosti molekul je zde předvedeno jako myšlení vlastní enzymologii. V kontextu disertace představuje smýšlení, které je rané molekulární genetice cizí a které docenil teprve pozdější vývoj.

Osmá kapitola se věnuje pseudoalelismu, jehož poznávání ukázalo na rozostřenost vnějších hranic genu a na dělitelnost genu. Rozbor pseudoalelismu a jeho pochopení jako pozičního efektu, který nastává v rámci genu, vyzdvihuje význam uspořádání. V tomto smyslu ho lze pokládat za zcela zásadní pro rodící se molekulární genetiku.

Devátá kapitola sleduje pojmy specifičnost a templát, které se původně uplatňovaly při vysvětlování tvorby protilátek. Popisované teorie ukazují význam, který specifickému prostorovému uspořádání molekul připisovali imunologové. Kapitola popisuje, jak se představy vycházející z tvarů molekul promítaly do vysvětlování proteosyntézy a jak ovlivňovaly úvahy genetiků. Podobně jako sedmá kapitola tedy dokumentuje způsob uvažování, od něhož se molekulární genetika ve svých počátcích distancovala.

## 2. Od genu k fenotypu. Představy o působení genů v době klasické genetiky

Navzdory převažujícímu nezájmu o utváření znaků se i mezi genetiky občas setkáme s pokusy dotknout se fungování genů a zakomponovat je do výkladu vývoje v rámci jejich oboru. Tito badatelé mnohdy uvažovali o spojitosti genů s enzymy. Jejich teorie nebyly vždy detailně promyšlené a jednalo se spíše o spekulace, jak by mohly geny ontogenezi ovlivňovat. Myšlenka, že v základu genového působení nějak figurují enzymy, se tu a tam vynořovala od samého počátku moderní genetiky<sup>25</sup> a postupně získávala své přívržence. Význam těchto na první pohled nedůležitých úvah je zřejmý, uvažíme-li, jaký posun pro genetiku ve 40. letech znamenala hypotéza „jeden gen – jeden enzym“.

### 2.1. Geny a enzymy – okrajové snahy genetiků vysvětlit, jak působí klasický gen

Spojování genového působení s enzymy vyžaduje nastínit dobový pohled na enzymy. Je příznačné, že enzymologové soustřeďovali svoji pozornost hlavně na působení enzymů a otázku, jaká je jejich povaha, ponechávali stranou. Jak říká Falk:

*„Enzymes are materials causing chemical changes in various substances.“*

*„Enzymy jsou látky způsobující chemické změny v různých látkách.“ (Falk 1935, s. 472)*

Enzymatické aktivitě bylo věnováno bostonské setkání Americké chemické společnosti (1917) nesoucí název „Enzymy a jejich chování“. Mnoho informací o enzymech (resp. o kinetice jejich reakcí) přineslo studium invertázy, enzymu štěpícího třtinový cukr (sacharózu) na glukózu a fruktózu (levulózu).<sup>26</sup> Každopádně v době, kdy se relativně často přirovnává genová působnost k působnosti enzymů, toho bylo o enzymech známo překvapivě málo. Výše citovaný Falk se například domnívá, že porozumění chemické povaze enzymu brání hlavně složitá struktura substrátů, jejichž přeměnu enzym urychluje. Výjimku v tomto

---

<sup>25</sup> Myšlenka, že dědičné determinanty mohou působit jako fermenty (tj. enzymy), najdeme již na sklonku 19. století v práci H. Driesche. (Driesch, H. *Analytische Theorie der organischen Entwicklung*. Leipzig, Engelmann, 1894.)

<sup>26</sup> O'Sullivan, C., Thompson, F. W. Invertase: A contribution to the history of an enzyme or unorganized ferment. *J. Chem. Soc.*, 1890, 57: 834–931. Armstrong, H. E., Armstrong, E. F. Studies on Enzyme Action. X. The Nature of Enzymes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, 1907, 79 (533): 360–365.

ohledu představují jen lipázy a esterázy. (Mechanismus hydrolýzy esteru na kyselinu a alkohol však není na počátku 20. století znám.) Těmto přístupnějším případům se podrobně věnuje H. E. Armstrong (1907), který enzymy pojímá velmi obecně jako o specificky působící látky.

V mnoha pracích se setkáváme s domněnkou, že jsou enzymy koloidy, nebo jsou alespoň úzce spojené s látkami, které vykazují koloidní vlastnosti. Pojem koloid použil prvně v polovině 19. století T. Graham<sup>27</sup>, když studoval rychlost difuze látek přes pergamenovou membránu. Označoval tak látky, které se chovaly podobně jako kliš, tj. difundovaly jen neochotně. Graham o nich předpokládal, že nejsou schopné krystalizovat. (Ostatní látky, které difundovaly snadno a v pevném stavu byly krystalické, označoval jako krystaloidy.) Na přelomu 19. a 20. století dospěl W. Ostwald<sup>28</sup> k závěru, že do koloidního stavu se mohou dostat nejrozličnější skupiny látek. Dnes slovo koloid označuje systém na pomezí pravého roztoku a suspenze o velikosti částic mezi 1 nm a 1 μm. (Tyto rozměry částic způsobují, že se povrchové molekuly z rozhraní fází chovají jinak než molekuly rozptýlené v objemu. To se může odrazit například na barvě, vodivosti a jiných vlastnostech.) Přesvědčení, že je enzymatické působení ve svojí podstatě povrchový jev – adsorpce, při níž se látky hromadí na fázovém rozhraní, se táhne až do 40. let 20. století.<sup>29</sup>

O enzymech se často hovořilo v souvislosti s proteiny. Zda jsou enzymy skutečně proteiny, však nebylo zcela zřejmé. Například K. G. Falk uvažuje o možnosti, že jsou enzymy tvořeny alespoň z části molekulou proteinu nebo je proteiny provázejí v tak těsném spojení, že se je dosud nepodařilo oddělit. (Falk 1918, s. 425)<sup>30</sup> Někteří badatelé se domnívali, že je aktivní enzym určitou chemickou skupinou či částí molekuly, kterou zbytek molekuly (většinou koloidní) stabilizuje. Tento názor zastává například R. Willstätter (1926). Specifičnost enzymu připisuje jeho aktivní skupině, která patrně může být přenesena z jednoho koloidního nosiče na druhý. Také Willstätter s politováním konstatuje, že se nepodařilo oddělit tuto aktivní část od koloidního nosiče, aniž by nedošlo ke ztrátě její aktivity.<sup>31</sup> Nepřekvapí tedy, že mnoho enzymologů pokládalo za zásadní izolovat čistý

---

<sup>27</sup> Graham, T. Liquid Diffusion Applied to Analysis. *Phil. Trans. Roy. Soc. (London)*, 1861, 151: 183–224.

<sup>28</sup> Ostwald, W. Studien über die Bildung und Umwandlung fester Körper. *Z. Phys. Chem.* 1897, 22: 289–302.

<sup>29</sup> Eyster, H. C Enzyme Action. *Science, New Series*, 1942, 96 (248): 140–141.

<sup>30</sup> Tento pohled najde čtenář také v práci Mathews, A. P., Glenn, T. H. The Composition of Invertase. *Jour. Biol. Chem.*, 1911, 9: 29–56.

<sup>31</sup> K těmto úvahám můžeme doplnit ještě názor D. H. Thompsona, podle kterého enzymy zprostředkovávají genové působení, přičemž geny patrně představují rodičovské substance enzymů, z čehož vyvozuje, že mají

enzym, který by vykazoval stejné vlastnosti jako enzym v živém organismu.

Na počátku 20. století se tedy enzymy chápaly jako složitá chemická individua, jejichž specifický vliv se omezoval na tzv. aktivní centra. (Armstrong 1907, s. 365) Které části enzymu jsou za onen specifický účinek zodpovědné, však nebylo známo. V tomto bodě je možné upozornit na jistou podobnost s působením genů: Ani v případě genového materiálu nebylo dlouho jasné, jaká látka jej tvoří. Klasická genetika se klonila k názoru, že je tvořený proteiny, poněvadž druhá složka chromozomů – nukleová kyselina – byla považována za příliš jednoduchou.

Další paralelu mezi geny a enzymy můžeme hledat v předpokládané složitosti genů, která měla převyšovat složitost většiny molekul a mohla tím připomínat složitost enzymů. Narážku na nepoměr složitosti mezi nositeli enzymové aktivity a látkami, na které působí, najdeme u výše citovaného Falka:

*„Considering the very complex nature of the protein or other molecule which includes the enzyme, or with which the enzyme may be associated, and the more or less specific reaction which it accelerates, it would appear as if some definite grouping in the complex enzyme molecule were responsible for a given enzyme action. Although this is an assumption there is considerable ground for making it, considering the views held at present with regard to the probable mechanism of the reaction of ester hydrolysis, and the complex nature of the protein enzyme molecule compared with the comparatively simple ester, acid, alcohol molecules involved in the catalyzed reaction.“*

„Uvažujeme-li komplexní povahu proteinu nebo jiné molekuly, která daný enzym zahrnuje či se kterou je enzym spojený, a více či méně specifické reakce, které urychluje, zdá se, jako by určitá konkrétní skupina v komplexní enzymové molekule byla zodpovědná za příslušné enzymové působení. Ačkoliv je to jen předpoklad, uvažíme-li soudobý pohled na mechanismus hydrolýzy esterů a složitost proteinové enzymové molekuly ve srovnání s poměrně jednoduchým esterem, kyselinou a alkoholem, které se té katalyzované reakce účastní, máme pro něj pádný důvod.“ (Falk 1918, s. 426)

Možností, jak poznat skupinu zodpovědnou za působnost enzymu, byla inaktivace enzymů. Lehké zklamání však vyvolala skutečnost, že se inaktivace dalo dosáhnout působením různých látek, tj. různými reakcemi. Tento výzkum nicméně poukázal na vliv vzájemného postavení částí molekuly.<sup>32</sup> Další důvod, proč si představovat geny jako enzymy, tedy mohl souviset s tím, že se změna či poškození určité části enzymu projeví na celkové aktivitě. Situace u genů je obdobná. (Nejen mutace, ale i sousedství jiných genů mění jejich působení.) Dalším důvodem, proč vnímat genové působení jako působení enzymů, může být

---

enzymy a geny patrně stejnou strukturu. (Thompson 1931, s. 287) O Thompsonově teorii se zmiňuje pátá kapitola.

<sup>32</sup> Například za aktivní skupinu esteráz a lipáz začala být považována laktimová skupina ( $-C(OH)=N-$ ), jejíž inaktivace odpovídala přetvoření v laktamovou skupinu ( $-CO-NH-$ ). (Falk 1918, s. 428)

kromě chemické povahy obou entit a jejich složitosti i katalytická schopnost enzymů (tj. schopnost měnit rychlost chemické reakce tak, aniž se látka za to zodpovídá chemicky změnit). Ta jim umožňuje zasahovat do dění v organismu stejně výrazně, jako zasahují geny.

Studium rychlosti enzymatických reakcí posunuli vpřed německý biochemik, lékař (a zároveň bývalý asistent P. Ehrlicha) L. Michaelis a kanadská lékařka M. L. Mentenová.<sup>33</sup> Michaelis a Mentenová studovali invertázu, ferment (enzym) katalyzující štěpení sacharózy na glukózu a fruktózu. (Název invertáza naznačuje, že při této reakci dochází ke změně optické aktivity. Opticky aktivní jsou molekuly s asymetrickým prostorovým rozložením, které stáčí rovinu polarizovaného světla vpravo či vlevo od jeho původního směru. Zatímco sacharóza stáčí rovinu polarizovaného světla vpravo, směs levotočivé fruktózy a pravotočivé glukózy je opticky neaktivní. Invertáza vykazuje největší afinitu vůči sacharóze, ale je schopna vázat se i na jiné karbohydráty. To dokládá skutečnost, že přítomnost glukózy či fruktózy zpomaluje inverzi sacharózy.) Michaelis a Mentenová sledovali rychlost štěpení sacharózy pro různé koncentrace sacharózy tak, že měřili optickou rotaci v závislosti na čase. Testovali hypotézu, že sacharóza s invertázou vytváří labilní komplex, který se následně rozpadá na invertázu, fruktózu a glukózu. Protože rozklad tohoto komplexu měl představovat monomolekulární reakci, měla být rychlost inverze v kterémkoli okamžiku přímo úměrná koncentraci tohoto komplexu. A to jejich měření potvrdila. (Johnson, Goody 2011, s. 8264)

Představa, že se při reakci vytváří komplex enzymu a substrátu<sup>34</sup>, který se pak rozpadá na výsledné produkty enzymatické reakce, se během 20. a 30. let uchytila. Jak ale upozorňuje Falk, tento meziprodukt nikdy nebyl izolován a doklady pro jeho existenci byly jen nepřímé. Nicméně připouští, že je tento předpoklad velmi užitečný. Potíž s představami o mechanismu enzymového působení spočívala v tom, že vycházely ze zjednodušených laboratorních situací. Proto Falk říká, že opravdovější pohled na věc získáme, budeme-li si všimnout mechanismu enzymového působení v živém organismu. Odkazuje na studie vlivu proteinů na různé enzymy a říká, že enzym je v živém organismu ovlivněn přítomnými, zdánlivě neaktivními látkami. Tyto látky někdy vykazují přímý vliv (jak je tomu u působení proteinů na lipázy), jindy jen ovlivňují intenzitu daného děje (takový je vliv proteinů na činnost invertázy).

---

<sup>33</sup> Michaelis, L., Menten, M. L. Die Kinetik der Invertinwirkung. *Biochem. Z.*, 1913, 49: 333–369.

Ještě dříve se pokusil popsat matematicky vztah mezi rychlostí reakce a koncentrací substrátu V. Henri. (Henri, V. *Lois générales de l'action des diastases*. Paris, Hermann, 1903.) Jeho práce však měla ve srovnání s prací Michaelise a Mentenové jisté nedostatky. Henri například nekontroloval pH sledovaných reakcí.

<sup>34</sup> Na sympoziu „Chemie enzymů“, uspořádaném Americkou chemickou společností v roce 1934, se o tomto komplexu hovoří jako o „*addition compound of enzyme and substrate*“. (Falk 1935, s. 473)

V úvahu je třeba brát i působení různých enzymů na sebe navzájem. Existence interakcí s ostatními látkami, skutečnost, že jsou enzymy schopné působit za různých okolností různě, zřejmě Falkovi připomíná působení genů: Ani působení genu není nezávislé na ostatních látkách v buňce, v různých podmínkách působí tentýž gen různě.

*„The enzyme in the living organism never acts alone or in a pure state; the external factors play a possibly predominating role. Perhaps the enzyme may be called the hereditary factor, and what actually occurs in any given case depends upon the other substances present or the environment. This is an interesting thought to play with but must not as yet be taken too seriously. The mechanism of enzyme actions in the living organism offers a vast field for study.“*

„Enzym v živém organismu nikdy nepůsobí osamoceně ani v čistém stavu; rozhodující roli patrně hrají vnější faktory. Možná bychom mohli enzym označit za dědičný faktor, přičemž to, co se v dané situaci stane, závisí na ostatních přítomných látkách nebo na okolním prostředí. S touto zajímavou myšlenkou si můžeme pohrávat, nesmíme ji však zatím brát příliš vážně. Mechanismus enzymatického působení v živém organismu představuje rozsáhlou oblast k dalšímu bádání.“ (Falk 1935, s. 474–475)

## 2.2. Geny a enzymy v teorii L. T. Trolanda

Jak vypadaly snahy o vysvětlení genového působení pomocí enzymů, dokládá práce L. T. Trolanda z roku 1917. Jeho „enzymová teorie života“ se primárně věnuje vzniku života na Zemi, ale předkládá také myšlenku, že dědičné determinanty působí jako enzymy.<sup>35</sup> K všeobecné známosti této teorie přispěl H. J. Muller, který se jí ve 20. a 30. letech v mnohém inspiroval a v pozměněné podobě ji propagoval.<sup>36</sup>

L. T. Troland byl americký fyziolog se širokými intelektuálními zájmy, který se věnoval hlavně psychickým pochodům a na Harvardské univerzitě vyučoval psychologii. V prvních desetiletích 20. století se soustředil na otázku vzniku života na Zemi. K většímu zájmu vědy o vznik života na Zemi přispělo koncem 19. století několik oborů: Mikrobiologické pokusy ukazovaly, že ani sebemenší organismy nevznikají jen tak z neživé hmoty. Cytologické pokroky svědčily o tom, že protoplazma není tak homogenní, jak se dříve soudilo, a složitost zdánlivě jednoduchých buněk vyvolávala dojem propastného rozdílu mezi živým a neživým. (Fry 2006, s. 24) V reakci na tato zjištění se mezi fyziology objevují vitalistické názory, které

---

<sup>35</sup> Troland svou teorii uveřejnil v několika publikacích. Kromě zde citovaného článku můžeme uvést tyto:

Troland, L. T. The Chemical Origin and Regulation of Life, *Monist*, 1914, 24: 92–133. Troland, L. T. The Enzyme Theory of Life, *Cleveland Medical Journal*, 1916, 15: 377–389.

<sup>36</sup> Muller, H. J. The Gene Material as the Initiator and the Organizing Basis of Life. *The American Naturalist*, 1966, 100 (915) Special One Hundredth Anniversary Year Issue: 493–517.

Stojí za zmínku, že někteří badatelé pojednávají Trolandovu průkopnickou teorii po boku teorií A. I. Oparina a J. B. S. Haldaneho. Například I. Fryová upozorňuje hlavně na blízkost Trolandovy a Haldaneho teorie, které obě chápou život jako molekulární sebe reprodukci. (Fry 2006)



odmítají vysvětlovat biologické jevy čistě pomocí fyzikálních a chemických pojmů.<sup>37</sup>

V této souvislosti jsou zajímavé motivy, které Troland k napsání článku vedly. Snaží se totiž vitalistům předvést přístup k zásadním otázkám biologie očima moderní teorie hmoty. Troland vyjmenovává pokroky anorganických věd z konce 19. století, zdůrazňuje, jak se postupně jednotlivé poznatky propojují, a pohoršuje se nad znovu se vzímající vitalismem. A účelem jeho článku je nabídnout biologům:

*„a general speculation concerning the life process, which – although incapable of immediate verification in all of its aspects – does answer the most perplexing questions raised by vitalism, and at the same time forms a perfectly distinct bond between biological theory and the modern theory of matter.“*

„obecně pojatou úvahu o životním procesu, kterou sice nejde po všech stránkách bezprostředně potvrdit, ale která odpovídá na zápleklité otázky nastolené vitalismem a současně zřetelně propojuje biologickou teorii a moderní teorii hmoty.“ (Troland 1917, s. 324)

I kdyby Troland svůj záměr výslovně nezformuloval, je velmi nápadné, že jde spíše o boj proti vitalistům než o popis určitého chemického děje. Téma samotné, vysvětlení zásadních otázek (včetně působení genů) pomocí enzymů, zde má druhotný význam. Slouží především jako materiál, na němž je předvedeno, jak by měli vitalisté začít „správně“ přemýšlet.

Troland pojímá enzym jako:

*„a substance which changes the velocity of a reaction without itself being changed by the process.“*

„látku, která mění rychlost reakce, aniž by byla sama tímto procesem změněna.“ (Troland 1917, s. 329)

Tuto katalytickou schopnost podle něj vykazují v zásadě všechny látky. Zvláštní význam připisuje především autokatalýze<sup>38</sup>, během které látky urychlují reakci, při níž se samy tvoří. Trolandovo pojetí autokatalytických reakcí je velmi široké. Zahrnuje i krystalizaci, při níž se molekuly z roztoku uchycují na již existujícím krystalu téže látky. Autokatalytičnost pokládá za zásadní atribut organismu, na němž spočívá jeho růst, chápaný

---

<sup>37</sup> Vitalisté, resp. neovitalisté počátku 20. století nepopírají, že zákony neživého světa platí i v živém, nemohou však podle nich život zcela vysvětlit. Mnozí nehovoří o nějaké životní síle, jak to často dělali vitalisté 19. století, spíše zdůrazňují svébytnost živého. Poukazují především na účelnost životních jevů, na to, že se vývoj organismů zdá směřovat k předem vytčenému cíli a že tuto skutečnost neumí redukcionisté uspokojivě vysvětlit. (Mareš 1992, s. 15) Jinou odezvu na daný stav představují panspermické teorie, podle nichž je život ve vesmíru přítomen věčně a na Zemi byl pouze přenesen.

<sup>38</sup> Termín autokatalýza zavedl v roce 1911 A. Hagedoorn. (Hagedoorn, A. L. Autokatalytic Substances the Determinants for the Inheritable Characters. A biomechanical theory of inheritance and evolution. Leipzig, W. Engelmann, 1911.)

jako růst krystalu. (Troland 1917, s. 338)

Život podle Trolanda charakterizuje reprodukce a organizace sebe samého. Obou těchto vlastností se podle něj dosahuje selektivní katalýzou a regulací, a proto je nutné vysvětlit, jak tyto vlastnosti vznikly fyzikálně-chemickými prostředky u jednoduché molekuly v praoceánu. Tato molekula musela být jak autokatalytická, tj. katalyzující tvorbu sebe samé, tak heterokatalytická, tj. katalyzující tvorbu jakési obálky okolo sebe. Troland o této uvažované molekule hovoří jako o „prvním enzymu“ či o „protáze“. (Látku, vůči které vykazuje protáza heterokatalytický vztah, označuje termínem eoplazma.)

Troland se ztotožňuje s názorem, že zárodečná plazma obsahuje determinanty pro tvorbu enzymů, které regulují některé aspekty vývoje. Vyzdvihuje odvalu R. Goldschmidta<sup>39</sup>, který jako jeden z mála učinil další krok a ztotožnil mendelovské jednotky (*unit-characters*) s enzymy. Troland s ním souhlasí, neboť mu prý není známo nic, co by odporovalo náhledu, že jsou mendelovské faktory enzymy. (Troland 1917, s. 327–328) Často používá slovní spojení „genetický enzym“, odkazující na heterokatalytickou aktivitu genů, která byla v organismech známa právě od enzymů. (Muller 1929, s. 917) Ztotožňuje ho s nukleovou kyselinou s odůvodněním, že je nukleová kyselina stálá součást jádra, přičemž ve všech tkáních je přítomen stejný typ kyseliny. (Troland 1917, s. 342)

*„In attributing the capability of both autocatalysis and heterocatalysis to his ‘genetic enzyme’, and moreover, in postulating the need to combine gene and enzyme in the same molecule, Troland’s conception is a forerunner of the ‘ribozymes’, enzymatic RNA molecules. The ribozymes, hypothesized in the 1960s and discovered in the 1980s, are considered the cornerstone of the RNA world, regarded by most scientists as a crucial stage in the emergence of life. Like present-day RNA-world supporters, Troland saw the autocatalytic aspect of his ‘genetic enzyme’ as its pivotal function.“*

„V tom, že připisuje ‚genetickému enzymu‘ schopnost autokatalýzy i heterokatalýzy, a dále v předpokládané potřebě spojit gen a enzym v jedné molekule, je Trolandova koncepce předchůdkyní ribozymů, enzymatických molekul RNA. Ribozymy, jejichž existence se předpokládala v 60. letech, přičemž objeveny byly v 80. letech, jsou pokládány za základ RNA světa, považovaného mnoha vědci za klíčovou etapu vzniku života. Stejně jako mnoho soudobých zastánců hypotézy RNA světa i Troland spatřoval v autokatalytičnosti genetického enzymu jeho stěžejní působení.“ (Fry 2006, s. 27)

Je zajímavé srovnat Trolandovu teorii s de Vriesovou teorií pangeneze. Zatímco podle pangeneze je určitá vlastnost dána množstevní převahou příslušné dědičné jednotky (pangenu), podle Trolanda postačuje pro vytvoření dané vlastnosti (vytvořením příslušné chemické látky) přítomnost jedné jednotky – genetického enzymu. (Troland 1917, s. 345)

Trolandova teorie byla kritizována především za to, že předpokládá náhlý vznik molekuly, která je sama o sobě velmi složitá. Jak říká B. Lipman:

---

<sup>39</sup> Goldschmidt, R. Genetic factors and enzyme reactions. *Science*, 1916, 43: 98–100.

*„Troland's enzyme theory assumes that enzymes produced in some fortuitous fashion became the centers of subtle changes which resulted in the formation of accelerated reactions between the substances soluble in the warm waters of the earth's surface. These would cause the formation of immiscible substances in which the enzyme continued to play the role of accelerator until some primitive jelly-like mass with living characteristics would be produced. It is obvious that the Troland theory is vulnerable because it assumes the beginning of life to be contingent upon the existence of an autocatalytic enzyme which is, itself, so complex a substance that chemists have not succeeded in discovering its nature. In other words, it seems to me that if we are to begin our theory of the origin of life by postulating the sudden appearance of an autocatalytic enzyme under primal Earth conditions, we might as well postulate the sudden appearance of a living amoeba or even something much more complex.“*

„Trolandova enzymová teorie předpokládá, že enzymy, vzniklé nějakým náhodným způsobem, se stávají centry sotva patrných změn, které vedou k urychlení reakcí mezi látkami rozpuštěnými v horkých vodách na zemském povrchu. Ty způsobí utvoření nemísitelných látek, v jejichž prostředí enzymy pokračují v urychlování reakcí, dokud nevznikne jednoduchá rosolovitá hmota s vlastnostmi živého. Je zřejmé, že je Trolandova teorie zranitelná, neboť se podle ní počátek života odvíjí od existence autokatalytického enzymu, což je sama o sobě natolik složitá látka, že se chemikům dosud nepodařilo odhalit její povahu. Neboli se mi zdá, že pokud musíme teorii vzniku života začít předpokladem náhlého vzniku autokatalytického enzymu v prvotních podmínkách na Zemi, můžeme stejně dobře předpokládat náhlý vznik živé améby nebo něčeho ještě složitějšího.“ (Lipman 1924, s. 362–363)

Podle Lipmana Troland navíc očekává, že vzniklý enzym bude schopen dvojího působení, což je velmi nepravděpodobné. Troland však jeho kritiku odmítá a vysvětluje, že jedna molekula tohoto enzymu mohla nejprve vytvořit mnoho svých kopií, které teprve následně začaly působit heterokatalyticky. Úplně prý stačí předpokládat, že ke vzniku tohoto enzymu došlo pouze jedinkrát, přičemž na tuto „šťastnou náhodu“ bylo v geologické minulosti dostatek času. (Troland 1914, s. 92 a 102) Troland nicméně uznává, že jeho teorie není podložena konkrétními fakty. Cení si jí především proto, že poskytuje ucelený, všeobecný pohled na fungování živého.

Trolandova teorie tedy představuje spekulaci, která vysvětluje působení dědičných faktorů působením enzymů. Od jiných obdobných pokusů této doby ji odlišuje skutečnost, že pouze nekonstatuje pravděpodobnou spojitost mezi geny a enzymy, ale odvažuje se je přímo ztotožnit. Její význam spočívá v tom, že jako první jasně hovoří o genu jako o autokatalyzátoru (látce, která urychluje reakce vedoucí k produkci molekuly s ní identické). Autokatalýza dědičných částic odpovídá podle Trolanda růstu krystalů v roztoku, který je způsoben přitahováním pevného krystalu a molekul v roztoku. (Troland odkazuje na přitahování magnetu k pólům, které vede k patřičnému natočení magnetek.) Každá odlišná část genové struktury prý přitahuje z protoplazmy materiál podobného typu, který vedle původního genu zformuje další strukturu se stejně uspořádanými částmi. Tyto části se následně spojí a vytvoří repliku genu. Právě tato představa mozaikovitého skládání částí genu,

které k sobě z roztoku přitahují odpovídající části, oslovila H. J. Mullera. Přijmeme-li ji, dá se totiž vysvětlit zcela zásadní problém: Jak je možné, že mutovaný gen nadále tvoří příslušně změněnou verzi. (O konkrétní stavbě genu to nicméně nic nevypovídá.)<sup>40</sup>

*„The autocatalysis is an expression of specific attractions between portions of the gene, and similar protoplasmic building blocks (dependent on their force-field patterns), it is evident that the very same forces which cause the genes to grow should also cause like genes to attract each other, but much more strongly, since here all the individual attractive forces of the different parts of the gene are summated.“*

„Autokatalýza je projevem specifického přitahování mezi částmi genu a stejnými stavebními bloky (závislém na jejich silových polích). Je zřejmé, že stejné síly, které způsobují růst genů, by měly také způsobovat, že se k sobě obdobné geny přitahují, a to ještě silněji, neboť se zde veškeré jednotlivé přitažlivé síly různých částí genu sčítají.“ (Muller 1922, s. 37–38)

### 2.3. Další teorie rané genetiky spojující geny s enzymy

Trolandova teorie byla sice známá, ale rozhodně ne první svého druhu. Již deset let před ní uvažoval o možnostech působení dědičných faktorů J. Loeb. Okolo roku 1907 dospěl (ve shodě s fyzikálním chemikem W. Ostwaldem) k přesvědčení, že jádro je sídlo autokatalytických změn. Loeb se pozastavoval nad představou, jak může vzniknout harmonický celek, je-li organismus jen mozaikou mendelovských vlastností. Bez předpřipravené struktury ve vajíčku se mu zdálo formování komplikovaného organismu nepředstavitelné. Přijetí vitalistických představ nějaké řídicí síly pokládal za nepřijatelné přenesení problému mimo sféru fyziky a chemie. Místo toho dospěl k předpokladu, že mendelovské faktory patrně dávají vznik nějakým látkám, které nemusejí být nutně proteiny, ani nemusejí být druhově specifické. Tyto blíže nespecifikované látky mají putovat oběhem a zrychlovat či zahajovat různé reakce v různých částech embrya a tím determinovat jednotlivé vlastnosti příslušné variety nebo jedince. (Sapp 1987, s. 21) V roce 1915 se Loeb společně s kolegyní M. M. Chamberlainovou<sup>41</sup> věnoval vlivu teploty na autokatalytické procesy při embryonálním vývoji. Sledovali, jak dlouho trvá vajíčkům se stejnou dědičnou výbavou rýhování. Rozdíly v zaznamenané době připisovali rozdílům v množství enzymů

---

<sup>40</sup> Na rozdíl od Trolanda se však Muller domnívá, že předmětem vlivu genů není ovlivnění průběhu reakcí, ale přímo zastavení či povolení příslušné reakce.

K Trolandově představě skládání genů se Muller vrací i ve 40. letech, když říká, že jsou geny tvořené z omezeného počtu stavebních kamenů, přičemž jednotlivé geny od sebe odlišuje jen počet těchto kamenů a jejich uspořádání. (Uspořádáním nemyslí přímo lineární pořadí, ale i prostorové smotání řetězců.) (Muller 1947, s. 26)

<sup>41</sup> Loeb, J., Chamberlain, M. M. An attempt at a physico-chemical explanation of certain groups of fluctuating variation. *Jour.Exp. Zool.*, 1915, 19: 559–568.

v dané buňce. Došli k závěru, že dědičný faktor určující míru dělení buněk je determinant určující přesné množství těchto fermentů. Každopádně Loeb přiznává, že pro svá tvrzení nemá podklady chemické povahy.

K obdobným závěrům – že musí existovat vazba mezi dědičnými faktory a látkami, které vykazují enzymatickou působnost, případně že je hlavní úlohou genů přímo určování množství enzymů – došlo více autorů. Tyto studie jsou často spjaté s problematikou tvorby barviv.<sup>42</sup> O enzymech se v genetické literatuře prvně zmiňuje v roce 1903 L. Cuénot, který pojednává o chromogenu, domnělé látce nezbytné pro produkci všech barviv.<sup>43</sup> Podobné představy najdeme ve studiích M. Wheldalové<sup>44</sup> (provdané Onslowové), která se snaží ukázat, že červená a modrá barviva rostlin jsou produktem oxidace flavonových látek. Bílé variety podle ní obsahují bezbarvý chromogen (flavon), u barevných variet je tento chromogen v proměnlivém stupni oxidace a ta určuje zbarvení. Pomineme-li chemické detaily její práce, je třeba spolu s Morganem ocenit, že byla rozpoznána enzymatická povaha tohoto problému. (Morgan 1926, s. 501)

Morgan se ve svých člancích snaží přistoupit k pojetí genů jako enzymů kriticky, ale zároveň připouští, že je mu snaha vysvětlit takto vývoj blížká. Připomíná, že teorie genu neříká vůbec nic o propojení genů s jejich koncovým produktem, resp. s vytvořenou vlastností. Pochvalně se vyjadřuje o názorech J. Loeba, podle něhož dědičný faktor determinuje tvorbu daného množství enzymů, neboť faktory v chromozomech jsou příliš malé na to, aby nesly celé množství enzymů zárodku či dospělého. (Morgan 1919, s. 245) Nicméně dodává, že abychom vysvětlili předávání vlastností z generace na generaci, vůbec nemusíme vědět, jak geny vývojové procesy řídí. (Morgan 1926, s. 26) Přestože je pro něj představa genu jako komplexní organické molekuly nebo skupiny molekul přitažlivá, vyjadřuje se o jejich povaze opatrně:

*„The segregation of the members of each pair of Mendelian genes clearly leads to the idea of independent units. It would be unprofitable to*

*„Segregace členů každého páru mendelovských genů jasně vede k představě nezávislých jednotek. Debaty, zda jsou tyto*

---

<sup>42</sup> Na mnohé z nich odkazuje článek Morgan, T. H. Genetics and the Physiology of Development. *The American Naturalist*, 1926, 60 (671): 489–515.

<sup>43</sup> Cuénot, L. L'hérédité de la pigmentation chez les souris. *Arch. Zool. Exp. Gén. Ser.*, 1903, 1 (4): 33–41.

<sup>44</sup> Wheldale, M. Our Present Knowledge of the Chemistry of the Mendelian Factors for Flower-Colour. *Journal of Genetics*, 1915, 4 (4): 369–376. Wheldale, M. The Anthocyanin Pigments of Plants. Cambridge, Cambridge University Press, 1915.

*discuss whether these units are material particles or dynamic centers independent of material support. Standing on a chemical basis as physiology does today, we may without further discussion take for granted that the genes are some sort of chemical bodies. The evidence that these bodies are carried by the chromosomes is also on a substantial footing. ... The assortment of the different pairs of Mendelian genes has been found to be conditioned by the phenomenon of linkage which is now reasonably explained by the assumption that linked genes are those carried by the same chromosome. This interpretation is gaining ground in all fields of genetics and in my opinion has been demonstrated to be true for the chromosomes of Drosophila. The linear order of the genes in the chromosomes is the only view so far suggested that will account for all the facts relating to linkage, crossing-over and of interference."*

jednotky materiální částice nebo dynamická centra nezávislá na materiální opoře, by byly neplodné. Ze stanoviska chemického, jak ho dnes zastává fyziologie, můžeme bez dalších diskusí považovat za hotovou věc, že jsou geny nějakým druhem chemických tělísek. Důkazy, že je nesou chromozomy, mají také pevnou půdu pod nohama. ... Bylo zjištěno, že distribuce různých párů mendelovských genů je ovlivněna jejich vazbou, kterou nyní rozumně vysvětlujeme předpokladem, že jsou geny ve vazbě nesený stejným chromozomem. Tato interpretace získává na síle ve všech oblastech genetiky a podle mého názoru byla na chromozomech octomilky prokázána. Lineární pořadí genů na chromozomu představuje dosud jediný návrh, který ob stojí před všemi fakty vztahujícími se k vazbě, *crossing-overu* a interferenci." (Morgan 1918, s. 394–395)

Morgan konstatuje, že nejvíc pozornosti získalo spojování genů a enzymů v problematice růstu organismů, a zmiňuje dobovou představu, podle níž určitá stěžejní reakce kontroluje a zároveň limituje uplatnění ostatních reakcí v jednotlivých okamžicích, přičemž se všechny dohromady podílejí na růstu organismu. Morgan upozorňuje, že ani kdyby se daly rozdíly v růstu vysledovat až k rozdílům v genech, neznamená to, že jsou geny autokatalyzátory. Autokatalytičnost v kontextu růstu organismu totiž podle něj znamená jen tolik, že je růst zprvu pomalý a následně se zrychluje. (Morgan 1926, s. 507–508) Obdobně při dělení chromozomů neustále přibývá chromozomový materiál. (Zdvojí-li se dva chromozomy vzniklé rozdělením jednoho původního, jsou rázem čtyři. Přibývá jich tedy geometricky a v tomto smyslu se dá říci, že se tento proces zrychluje.) Morgan se ptá, zda když považujeme geny za enzymy, zda to znamená, že se chromozomy množí autokatalyticky? Upozorňuje, že ve známých autokatalytických reakcích, kterých se účastní enzymy, nedochází k nárůstu množství enzymu. (Těmto reakcím se říká autokatalytické, protože jeden z jejich produktů je autokatalyzátor.) Opomíjení tohoto faktu prý způsobilo, že biologové považují geny za enzymy. (Morgan 1926, s. 509)

*„We know, however, that enzymes are made by some living cells in unlimited quantities. If there is no proof that they are made as the result of the presence of an initial enzyme of the same kind (for enzymes are not known to act as autocatalysts of themselves), it would seem plausible to assume that they must be made from some protein or other constituent of the cell, possibly by an action of the genes. While, then, we may not be warranted in speaking of the genes*

*„Víme ale, že některé buňky tvoří enzymy v neomezeném množství. Pokud neexistuje žádný důkaz, že jsou výsledkem přítomnosti výchozího, s nimi shodného enzymu (není totiž známo, že by enzymy působily autokatalyticky samy na sebe), zdá se pravděpodobné, že musejí být vytvořeny z nějakého proteinu nebo jiné složky buňky – snad působením genů. Takže i když nejsme oprávněni mluvit o genech jako o enzymech, mohou být geny proteinové útvary, které mj. produkují enzymy, jež,*

*as enzymes, the genes may be protein bodies, one of whose activities is to produce enzymes which, being set free, act in each cell, and take part in catalytic reaction in the cytoplasm.*“

jsou-li uvolněny, působí v každé buňce a účastní se katalytických reakcí v cytoplazmě.“ (Morgan 1926, s. 509–510)

Známým autorem, který usiloval o předvedení vztahu mezi dědičnými jednotkami a enzymy, byl R. Goldschmidt. V tomto kontextu je relevantní jeho kvantitativní teorie pohlaví, která byla zveřejněna v roce 1916.

Goldschmidt studoval intersexualitu u můr (bekyní) rodu *Lymantria*.<sup>45</sup> Jedince křížil a sledoval výskyt samců, samic a intersexů. Výsledky křížení ho přivedly k závěru, že každý zárodek nese vlohy pro obě pohlaví, přičemž výsledný fenotyp je dán kvantitativním poměrem takových vloh. Jak Goldschmidt říká, záleží na různé potenci těch vloh, přičemž potenci myslí kvantitativní hodnotu těch pohlavních faktorů. Podle Goldschmidta si ji můžeme představit jako jistou koncentraci enzymu fungujícího podle známých zákonitostí. (Goldschmidt 1916, *Am. Nat.* s. 709)

V dalších pracích na bekyních Goldschmidt ukazuje závislost množství vytvořeného pigmentu na kvantitativní kombinaci dědičných faktorů. I v tomto případě říká, že pohlaví je dáno kvantitativním poměrem mezi sadou samčích a samičích pohlavních faktorů, přičemž výsledek záleží na rozdílu mezi těmito faktory: Nad určitou hodnotu (větší než je jistá minimální nezbytná hodnota pro převahu samčích faktorů) vzniká samec, nad jinou hodnotou (minimální pro převahu samičích faktorů) vzniká samice. Mezi těmito hranicemi existuje jakýsi přechod nazývaný intersex. Goldschmidt dává do souvislosti množství dědičného faktoru a zbarvení křídel, které má odpovídat míře příslušné enzymatické reakce. Zbarvením se totiž liší jednotlivá pohlavní stadia mezi samcem na jedné straně škály a samicí na straně opačné. Přitom barva pigmentu je pořád stejná, rozdílné je pouze jeho množství. (Pigment je podle Goldschmidta s největší pravděpodobností oxidáza.) Ve shodě s Loebovými závěry uzavírá Goldschmidt svůj článek, že onen:

*„the hereditary factor is a determiner for a given mass of ferments; and we can demonstrate it by the fact that a quantitative difference in the potency of hereditary factors causes a parallel, quantitatively different, enzyme production.“*

„dědičný faktor je determinant jistého množství fermentu, což můžeme ukázat na tom, že kvantitativní odlišnost v potenci dědičných faktorů způsobuje souběžnou kvantitativně odlišnou tvorbu enzymu.“ (Goldschmidt 1916, *Science* s. 100)

Podobně jako mnoho jiných badatelů vidí Goldschmidt v pozadí vývoje organismu řadu

---

<sup>45</sup> Pojem intersexualita odpovídá zhruba gynandromorfismu toho typu, kdy jedinci nejsou z hlediska pohlaví bilaterálně ani jinak symetriční.

řetězových reakcí. Když vyzdvihuje paralelu mezi množstvím dědičných faktorů (determinujících pohlaví) a množstvím enzymů (pro tvorbu pigmentu křídel), chápe gen jako aktivní činitel nejen s definovanou kvalitou, ale také kvantitou. Konkrétní návrh možného propojení genů a enzymů či přímý důkaz o něm však nemá. Toho si byli dobře vědomi i Goldschmidtovi současníci. Například T. H. Morgan říká, že Goldschmidt vysvětluje pohlavní mezistupně předpokladem jakéhosi mužského a ženského pohlavního enzymu, což je podle Morgana pouhý symbol mužskosti a symbol ženskosti. (Morgan 1926, s. 501) Pozitivněji hodnotí Goldschmidtovu práci například A. Gulick, který o ní říká:

*„Goldschmidt's hypothesis that the effect is referable to the speed differences elicited by different masses of competing genes seems entirely acceptable as an hypothesis, and open only to the reservation that different levels of catalytic effectiveness can equally well spring from minor qualitative differences in the molecular structure of the catalyst or gene. The belief shared by Morgan, Goldschmidt, and other authors that recessiveness need not imply the absence of a gene is strongly supported by these intersexes.“*

„Goldschmidtova hypotéza, která zaznamenaný projev připisuje rychlostním rozdílům způsobeným různým množstvím soupeřících genů, se zdá být přijatelná jen s tou výhradou, že různá úroveň katalytického působení může stejně dobře vzejít z drobných kvalitativních rozdílů v molekulární struktuře katalyzátoru nebo genu. Tyto intersexy navíc podporují přesvědčení Goldschmidta, Morgana a dalších, že recesivita neznamená nepřítomnost genu.“ (Gulick 1938, s. 9)

Kromě Goldschmidta a Wheldalové ukazuje provázanost genů s enzymy na tvorbě barviv například H. Onslow. I on vychází z tehdy uznávané teorie, podle níž je zbarvení melaninem výsledkem působení oxidázy na bezbarvý chromogen.<sup>46</sup> Za prekursor melaninu pokládá Onslow tyrozin a odkazuje na jeden případ, kdy byl v příslušně zbarvených tkáních prokázán současný výskyt tyrozinu a tyrozinázy. Snaží se objasnit mechanismus aktivace tyrozinázy a podpořit naznačenou hypotézu, že pigmentaci způsobuje vliv oxidázy na chromogen. (Onslow 1915, s. 37–38) Další cíl, který na výše uvedený logicky navazuje, vidí v doložení toho, že:

*„white colour pattern in rabbits is due to the presence of an anti-tyrosinase or inhibitor in the skin of these animals, and that the recessive white variety is due to the lack of one or both of the oxidase and chromogen constituents of the pigment-producing system.“*

„bílé zbarvení u králíků je způsobeno přítomností anti-tyrozinázy nebo určitého inhibitoru v kůži těchto zvířat a že bílá recesivní varieta je podmíněna buď ztrátou oxidázy, nebo ztrátou chromogenové složky v onom pigmentovém systému, nebo ztrátou obou komponent současně.“ (Onslow 1915, s. 38)

---

<sup>46</sup> Oxidázy jsou podle tehdejších názorů tvořeny dvěma částmi – peroxidem a peroxidázou, které spolu tvoří nestabilní komplex. Po jeho rozpadu se má uvolňovat aktivní atom kyslíku, který zoxiduje bezbarvý chromogen na pigment.



Zkoumání bíle vybarvených zvířat ho totiž dovedlo k názoru, že je lze v zásadě rozdělit do tří skupin: na albíny (kterým se dále nevěnuje), na recesivně bílé a dominantně bílé jedince. Onslow se snaží shromáždit důkazy pro to, že dominantně děděné bílé zbarvení je podmíněno přítomností inhibitoru oxidázy, která by jinak vytvořila normální pigmentaci. Recesivně podmíněná bělost je prý zajištěna jinak – buď nepřítomností chromogenu, nebo oxidázy, nebo obou zároveň. (Onslow 1915, s. 46–48) Právě tato myšlenka, že určitá vlastnost (bílá barva) může být podmíněna různými zásahy do příslušných reakcí, činí Onslowovy úvahy zajímavé. (Tuto představu znovu oživilo studium supresorových mutací, které rozebírá šestá kapitola.)

Popsané výzkumy prvních třech desetiletí 20. století ukazují, že téma genového působení a role enzymů v něm bylo v genetice přítomno od jejího počátku. Cennou myšlenkou, která z těchto úvah vzešla, je vztah genového působení a množení genů. Pohled na tento vztah měl dvě podoby, přičemž v této době nebyly prostředky, které by umožnily kompetentně se rozhodnout pro jednu z nich. První možností bylo považovat proces, kterým geny ovlivňují vývoj, za shodný s procesem zmnožování genů. Již H. de Vries očekával, že něco genu podobného odchází z jádra do cytoplazmy, kde to vykonává příslušnou funkci. Předpokládal, že v jádře jsou hmotní nositelé dědičných vlastností inaktivní, aktivují se právě v protoplasmě. (de Vries 1910, s. 7) Srovnatelně přijatelná se zdála být i druhá možnost. Podle ní je rozdíl mezi množением genů a mezi procesy, které geny podmiňují, když se nemnoží. Například podle T. H. Morgana mohou být v době mezi dělením produkovány a uvolňovány enzymy. (Morgan 1926, s. 510)

Opravdového vrcholu a všeobecného uznání dosáhly přístupy hledající spojitost mezi enzymy a geny až ve 40. letech v práci G. Beadle a E. Tatum.<sup>47</sup> (Tématům s tím souvisejícím se věnuje sedmá kapitola.) Význam těchto úvah zde může doložit zamyšlení H. J. Mullera z poloviny 40. let<sup>48</sup>:

---

<sup>47</sup> Beadle, G. W., Tatum, E. L. Genetic Control of Developmental Reactions. *The American Naturalist*, 1941, 75 (757): 107–116.

<sup>48</sup> V rámci své přednášky uspořádané v roce 1945 (v tištěné podobě vyšla v roce 1947) připomíná Muller různé varianty myšlenky, že gen působí jako heterokatalytický enzym. Zmiňuje mj. možnost, že takto působí genům podobné produkty, které opouštějí jádro. (Spiegelman, S. The physiology and genetic significance of enzymatic adaptation. *Ann. Mo. Bot. Gdn*, 1945, 32: 139–163. Lindegren, C. C. Mendelian and cytoplasmic inheritance in yeasts. *Ann. Mo. Bot. Gdn*, 1945, 32: 107–123.) Muller však pokládá za poněkud předčasný závěr, že gen (či jeho primární produkt) *vždy* nebo *většinou* působí jako enzym a že enzymy obecně představují primární

*„It is at least evident that if the primary gene products are not like (or complementary to) the gene itself, and so are not produced by a process akin to gene duplication, then the gene must certainly act as an enzyme in producing them ... Since different enzymes can initiate or accelerate the most varied types of reactions, the primary products of gene activity would in that case be correspondingly varied, and would belong to no one category of substances. If, on the other hand, the primary gene action is to produce more molecules similar in composition (or complementary) to itself, or to a part of itself (but perhaps unable to reproduce themselves further), it would be taking too much for granted to assume that the process of their production was an enzymatic one in the usual sense. For, as has been seen, gene duplication probably involves a very special kind of mechanism, that it would be misleading casually to lump with that of heterocatalytic enzymes, at least until more is known about it. And the gene products themselves, in case they were produced by such an essentially autosynthetic process, would not necessarily have to act as enzymes either: that is, they might actually become used up in the reactions which they in turn take part in, inasmuch as the original gene would presumably be able to replace them by the same autosynthetic process as before. This is not to deny, however, that they could act as enzymes, in some cases at least, particularly if they represented the protein component of the gene.“*

„Je alespoň zřejmé, že nejsou-li primární produkty genu totéž co geny samotné (či k nim komplementární) a nejsou-li produkovány procesem blízkým genové duplikaci, potom musejí geny dozajista působit při jejich tvorbě jakožto enzymy. ... Vzhledem k tomu, že různé enzymy mohou umožňovat či urychlovat nejrozličnější reakce, primární produkty působení genů budou patřičně rozmanité a nebude je možné zařadit do jediné skupiny látek. Pokud ale na druhou stranu spočívá primární působení genů v tvorbě vícera molekul obdobného (či komplementárního) složení k nim samým či k jejich části (která se ale patrně nedokáže dále reprodukovat), bylo by příliš troufalé považovat jejich tvorbu za enzymatickou v obvyklém slova smyslu. Protože jak se ukázalo, genová duplikace pravděpodobně zahrnuje velmi zvláštní mechanismus, který by bylo zavádějící házet do jednoho pytle s působením heterokatalytických enzymů. Alespoň tedy do doby, dokud o něm nebude víc známo. Navíc ani samotné produkty genů, pokud by byly vytvořené v zásadě autosyntézou, nemusejí nutně fungovat jako enzymy: Mohly by se ve skutečnosti spotřebovat v reakcích, kterých se účastní, bude-li ten původní gen schopen nahradit je pomocí autosyntézy. Tím nechci popírat možnost, že mohou alespoň v některých případech působit jako enzymy, obzvlášť pokud představují proteinovou složku genu.“ (Muller 1947, s. 24–25)

---

produkty genu. S odkazem na Beadleovy výzkumy chemismu mutantů rodu *Neurospora* připomíná, že když některý enzym chybí, případně je nefunkční či nějak změněný v souvislosti s mutací příslušného genu, nedokazuje to přímé odvození tohoto enzymu od daného genu. Enzym totiž mohl zasáhnout mutace v různých genech.

### 3. Mendelovská notace a pojetí faktoru

Klasická genetika měla jen omezené možnosti, jak se přiblížit fungování genů. Jednou z cennějších možností bylo studium pozičního efektu, vlivu genové dávky anebo zkoumání známých genotypů v různě změněném prostředí a porovnávání výsledných fenotypů s kontrolními. Sledovalo se i působení různých genových kombinací na známé vlastnosti.

Jednu z velkých překážek v pochopení, jak se utváří fenotyp, představoval tehdejší pohled na zárodek. Genetikové o zárodku hovořili, jako by šlo o útvar obsahující stovky tisíc vždy správně nakombinovaných balíčků chemických látek. Byť bylo známo, že jeden gen může při vývinu těla ovlivňovat vícero znaků (například tak, že v různých stádiích vývinu ovlivňuje různé znaky), tato skutečnost se přehlížela. Statistické vyhodnocování křížení totiž nutilo soustředit se na hotový výsledek vývoje a pokládat vlastnosti za cosi konečného. Klasická genetika si všímala jen počátku pomyslné vývojové dráhy (tj. genu) a jejího konce (tj. výsledné vlastnosti). Právě tento pohled, odhlížející od jakéhokoliv vývoje znaku, vedl k pohledu na organismus jako na *Eigenschaftsaggregat*. Jedním z následků této představy bylo rozšíření sousloví „jednotka znaku“ (*unit-character*). I přes svoji problematičnost byl tento pojem v prvních dvou desetiletích 20. století poměrně hojně užíván. Někdy byl neopatrně pokládán za synonymum pro slovo gen, resp. faktor, jak se tehdy častěji říkalo. Mezi oběma pojmy však existoval zásadní rozdíl, který nápadně vyvstává v různých interpretacích mendelovské notace. Diskuse o vhodnosti používání pojmu jednotka druhového znaku a o tom, co vůbec značí jedno písmeno v mendelovském zápisu, přimělo genetiky vyjasnit si používané pojmy a přineslo návrh na reformu mendelovského zápisu křížení. Právě kvůli souvisejícím úvahám o povaze genu, resp. faktoru, si toto téma zaslouží bližší rozbor.<sup>49</sup>

#### 3.1. Zápis křížení podle G. Mendela

Debata o potřebnosti úpravy stávajícího mendelovského zápisu se naplno rozhořela v roce 1913 na stránkách časopisu *The American Naturalist*. Do centra pozornosti se dostala pochybnost, zda tento záznam opravdu jen vystihuje skutečnosti, pro něž byl vytvořen, nebo v sobě do jisté míry nese vedle zachycených faktů i jejich interpretaci, která upozadňuje ostatní možné výklady.

---

<sup>49</sup> V upravené podobě vyšla tato kapitola jako článek. (Hájková, J. Mendelovská notace a pojetí faktoru.

O provázanosti interpretace zápisu křížení s chápáním faktoru v rané genetice. *Dějiny věd a techniky*, 2010, XLIII (3): 182–197.)

Notaci, která se stala středem zájmu, zavedl Gregor Mendel. Ve svém proslaveném díle *Versuche über Pflanzen-Hybriden* (1866) vysvětluje používání písmen ke schematickému zachycení křížení takto:

*„Bezeichnet A das eine der beiden constanten Merkmale, z. B. das dominirende, a das recessive, und Aa die Hybridform, in welcher beide vereinigt sind, so ergibt der Ausdruck  $A + 2Aa + a$  die Entwicklungsreihe für die Nachkommen der Hybriden je zweier differirender Merkmale ... wobei A und a wieder die beiden Stamm-Merkmale und Aa die Hybridform bezeichnet.“*

„Když **A** bude označovat jeden ze dvou konstantních znaků, například dominantní, **a** bude recesivní a **Aa** hybridní forma, v níž jsou oba společně, pak výraz  **$A + 2Aa + a$**  ukazuje možnosti pro potomka hybridů dvou odlišných znaků. ... **A** a **a** označují dva rodičovské znaky a **Aa** hybridní formu.“ (Mendel 1866, s. 17–18)

V jiném pokusu s více znaky používá značení takto: **A**, **B** jsou písmena vystihující mateřskou rostlinu, **a**, **b** rostlinu otcovskou, přičemž **A** značí kulatý, **a** vrásčitý povrch plodů, **B** žlutý a **b** zelený. Výslední hybridi vytvořili tři skupiny: Do první skupiny patřili konstantní hybridi **AB**, **Ab**, **aB**, **ab**. Následovali hybridi **AaB**, **Aab**, **aBb**, **Abb**, kteří byli konstantní v jednom a hybridní ve druhém znaku. Poslední formu představovali jedinci **AaBb**, kteří byli hybridní v obou znacích.

Značení hybrida dvěma písmeny a jedince v daném znaku konstantním písmenem jedním může působit dojmem, že v jednom případě slouží písmenné symboly ke znázornění znaku (u konstantních forem), v druhém případě (u hybridů) k zachycení onoho neznámého podkladu znaku, tedy faktorů v gametách. Jistou nedůslednost v notaci můžeme nalézt i v pasáži o tom, pro co se vžilo označení zákon o volné kombinovatelnosti vloh. Mendel mimo jiné píše:

*„Diese Reihe wird bekanntlich durch den Ausdruck  $A + 2Aa + a$  bezeichnet, wobei A und a die Formen mit den constant differirenden Merkmalen und Aa die Hybrid-Gestalt beider bedeuten.“*

„Tuto řadu reprezentuje výraz  **$A + 2Aa + a$** , ve kterém **A**, **a** znamenají formy s konstantními, lišícími se znaky a **Aa** hybridní formu obou těchto znaků.“ (Mendel 1866, s. 29)

O něco dále rozepisuje tuto formuli následovně:  $A/A + A/a + a/A + a/a = A + 2Aa + a$ . (Mendel 1866, s. 30)<sup>50</sup>

Mendelovým potřebám tento způsob notace dostačoval. Její bezproblémové používání bylo možné proto, že sledoval vždy dvojici znaků. (V uvedených případech šlo o kulatý, resp.

---

<sup>50</sup> Tato nesrovnalost v zápisu neušla pozornosti Ernsta Mayra. Podle něj si Mendel mohl myslet, že dva stejné elementy v jedné buňce spolu splývají, zatímco dva odlišné v hybridovi nikoliv, přičemž jejich oddělení a vzájemnou nezávislost to nijak neovlivní. (Mayr 1982)

vrásčitý povrch plodů a o žluté, resp. zelené plody.)

### 3.2. Mendelovská notace očima T. H. Morgana

Na možný problém s takto zavedenou notací upozornil jako první T. H. Morgan, který se potýkal s jinou situací. Sledoval několik mutantních forem téhož znaku (barvy očí octomilky), které vůči sobě nevykazovaly jednoduché vztahy. Podrobnosti o nich nalezne čtenář v článku T. H. Morgana a S. R. Safírové<sup>51</sup>. Zde bude větší prostor věnován jen první odhalené odchylce od normálu – bělookému mutantu (samci), který se neočekávaně vyskytl v populaci normálních červenookých jedinců.

#### 3.2.1. Křížení mutantů octomilky

Při křížení bělookého samce s červenookými samicemi vznikla jednotná (červenooká) F1 generace. V F2 generaci se narodila čtvrtina bělookých potomků, přičemž se jednalo výhradně o samce. (Morgan 1910, s. 121) Bělookost se tedy nejprve zdála být svázána se samčím pohlavím. Poté, co Morgan zkřížil červenookou samici z F1 generace s bělookým samcem z P generace, získal zhruba polovinu potomstva bělookého. V potomstvu byli rovným dílem zastoupeni samci i samice, což vyloučilo, že by se bělookost omezovala výhradně na jedno pohlaví.

Morgan předpokládá, že bělooký samec nese faktor W, přičemž polovina jeho spermií nese X. Samce proto značí WWX a jeho spermie WX–W.<sup>52</sup> Domnívá se, že červenooké samičky nesou faktor R a všechna jejich vajíčka X. Tyto samičky lze tedy zapsat RRXX a jejich vajíčka RX–RX. Prováděná křížení jsou zachycena na níže uvedených schématech, přičemž nad čarou jsou zapsány konstituce gamet, pod čarou genotypy potomků. (Morgan 1910, s. 120–121)<sup>53</sup>

---

<sup>51</sup> Morgan, T. H. The Origin of five Mutations in Eye Color in *Drosophila*. *Science*, 1911, 33: 534–537. Safir, S. R. A New Eye Color Mutation in *Drosophila* and Its Mode of Inheritance. *Biological Bulletin*, 1913, 25 (1): 45–51.

<sup>52</sup> V zápisu používá symbol X pro chromozom X, R pro červenou alelu a W pro bílou alelu. Symboly pohlavních chromozomů a faktorů pro barvu očí sice klade vedle sebe, nicméně v textu upřesňuje, že X a R jdou vždy společně a nikde se nevyskytují odděleně.

<sup>53</sup> Dále používaná schémata jsou přejata z publikace Morgan, T. H. Sex-limited inheritance in *Drosophila*. 1910, *Science*, 32: 120–122.

|       |   |     |          |
|-------|---|-----|----------|
| RX    | — | RX  | (female) |
| WX    | — | W   | (male)   |
| <hr/> |   |     |          |
| RWXX  | — | RWX |          |

Obr. 1 Křížení bělookého samce a červenooké samičky.

|        |    |        |    |                         |
|--------|----|--------|----|-------------------------|
|        | RX | —      | WX | (F <sub>1</sub> female) |
|        | RX | —      | W  | (F <sub>1</sub> male)   |
| <hr/>  |    |        |    |                         |
| RRXX   | —  | RWXX   | —  | RWX — WWX               |
| (25%)  |    | (25%)  |    | (25%) (25%)             |
| Red    |    | Red    |    | Red White               |
| female |    | female |    | male male               |

Obr. 2 Křížení jedinců F<sub>1</sub> generace.

Aby ověřil předpokládané konstitute, provádí Morgan následující křížení:

Pokud je bělooký sameček konstitute WWX a bělooká samička WWXX, pak zárodečné buňky samce jsou WX–W a samičky WX–WX. Morgan proto v tomto křížení očekává všechny potomky bělooké, což se potvrdilo. Situaci zachycuje následující schéma:

|              |   |            |          |
|--------------|---|------------|----------|
| WX           | — | W          | (male)   |
| WX           | — | WX         | (female) |
| <hr/>        |   |            |          |
| WWXX (50%)   | — | WWX (50%)  |          |
| White female |   | White male |          |

Obr. 3 Křížení bělookého samce s bělookou samičkou.

Předpoklad, že jsou samičky F<sub>2</sub> generace dvojího typu – RRXX a RWXX, jak ukazoval obrázek 2, ověřuje Morgan jejich zkřížením s bělookými samci. Potvrdilo se, že v případě samiček RRXX jsou všichni potomci červenookí a v případě samiček RWXX se objeví čtyři typy potomků (obr. 4).

|            |   |             |                         |   |             |
|------------|---|-------------|-------------------------|---|-------------|
| RX         | — | RX (female) | RX                      | — | WX (female) |
| WX         | — | W (male)    | WX                      | — | W (male)    |
| <hr/>      |   |             | <hr/>                   |   |             |
| RWXX — RWX |   |             | RWXX — WWXX — RWX — WWX |   |             |

Obr. 4 Křížení červenookých samiček F<sub>2</sub> generace s bělookými samci. (Na levém schématu je křížení vedoucí k homogennímu červenookému potomstvu, na pravém schématu křížení vedoucí k rozmanitému potomstvu.)

Že je červenooký samec F<sub>1</sub> generace heterozygotní (RWX), potvrzuje Morgan tím, že při jeho zkřížení s bělookou samicí WWXX vzniknou všichni samičí potomci červenookí a samčí běloocí. (obr. 5)

|       |   |     |                |
|-------|---|-----|----------------|
| RX    | — | W   | (red male)     |
| WX    | — | WX  | (white female) |
| <hr/> |   |     |                |
| RWXX  | — | WWX |                |

Obr. 5 Křížení dokládající heterozygotní charakter červenookého samce F<sub>1</sub> generace.

Když se bělooká samička zkřížila se samcem s normálním fenotypem, všechny samičky měly červené oči a všichni samci oči bílé. Morgan proto konstatuje, že u samce s normálním fenotypem chyběl alespoň jeden z faktorů potřebných pro červenou barvu očí, přičemž kromě tohoto faktoru mohl být celý zbytek genetické výbavy stejný jako u jedince červenookého.<sup>54</sup> (Křížený samec byl tedy heterozygotní, samička homozygotní, jak ukazuje obrázek 6. Obrázek 7 vysvětluje, že při křížení bělookého samce s divokou červenookou samičkou bude celé potomstvo červenooké.)

|            |   |           |                |
|------------|---|-----------|----------------|
| RX         | — | W         | (red male)     |
| WX         | — | WX        | (white female) |
| <hr/>      |   |           |                |
| RWXX (50%) | — | WWX (50%) |                |

Obr. 6 Křížení bělooké samičky a červenookého heterozygota.

|            |   |           |          |
|------------|---|-----------|----------|
| WX         | — | W         | (male)   |
| RX         | — | RX        | (female) |
| <hr/>      |   |           |          |
| RWXX (50%) | — | RWX (50%) |          |
| Red female |   | Red male  |          |

Obr. 7 Křížení bělookého samce a červenooké samičky.

Existence bělookého mutanta udělala z barvy očí znak, který má odpovídající gen, resp. faktor. Vedle normálního (červeného) a mutantního (bílého) oka ale byly v krátké době zaznamenány i další barevné odchylky – růžová, rumělková, červenobíle skvrnitá a oranžová.<sup>55</sup>

<sup>54</sup> S pojmem gen zachází Morgan v této době velice opatrně. Zprvu jej vůbec nepoužívá a hovoří výhradně o faktorech.

<sup>55</sup> V případě růžové barvy očí Morgan zjistil, že není vázána na pohlaví. Říká, že pokud spojujeme na pohlaví vázanou bílou barvu očí s nějakou změnou na pohlavním chromozomu, pak musíme umístit faktor pro růžovou barvu do chromozomu jiného. Zajímavý je i vztah bělookých a růžovookých jedinců. Morgan dokládá, že „běloocí postrádají jeden faktor potřebný pro červené a růžové oči a jiný faktor pro oči červené. Když se zkombinují, všechny tři elementy pro červenou jsou přítomny.“ (Morgan 1911, s. 535) *The white eye lacks one factor for red and pink eye, another factor for red. When combined all the elements for red are present.* Všimá si také rozdílu červenookých samic: „Rozdíl mezi těmito umělými červenookými a normálními jedinci spočívá v přítomnosti jedné dávky červené u těch umělých a dvou dávek u normálních jedinců (alespoň u samic).“ (Morgan 1911, s. 535) *The difference between these artificial reds and the normal reds consists in the presence of one dose of red in the artificial and two in the normal reds (at least in the female).*

Další barevný mutant - jasně červený (později označovaný jako rumělkový) vznikl při křížení jedince normálního fenotypu s jedinci s malíčkými křídélky. U této barvy byla zjištěna vazba na pohlaví, Morgan o nich ale blíže nehovoří, neboť nic podrobnějšího prozatím nebylo známo.

Čtvrtá barevná forma se objevila při křížení bělookých samců a červenookých samic, které byly heterozygotní z hlediska růžovookosti. Tehdy vznikli mj. jedinci s očima oranžovými. Výskyt oranžových jedinců byl vždy provázen výskytem jedinců rumělkových, a proto se Morganovi zdá, že je oranžová nějak spojena s faktorem

### 3.2.2. Morganovy výhrady vůči mendelovskému zápisu

Morganova kritika zápisu opírající se o mutanty octomilky přichází v době, kdy spolu soupeří dva alternativní pohledy na dědičnost, které je nyní třeba krátce představit. V první dekádě 20. století získala sympatie a uznání genetiků hypotéza, která bývá výstižně označována jako **hypotéza přítomnost – nepřítomnost**. Ta spojovala přítomnost jistého znaku s přítomností jemu příslušejícího faktoru, nepřítomnost znaku vykládala jako ztrátu onoho faktoru. Je nanejvýš důležité zdůraznit, že nevykazoval-li jedinec daný znak, předpokládala se nepřítomnost uvažovaného faktoru, nikoliv přítomnost jakéhosi nulového (nepůsobícího) faktoru. (Shull 1909) Konkurenční přístup k vysvětlování dědičnosti prezentoval tzv. **alelomorfismus**, který získal převahu až v desetiletí následujícím. Oproti hypotéze přítomnost – nepřítomnost alelomorfismus předpokládá, že je v buňkách faktor pro daný znak přítomen vždy. Může však mít jednu podobu aktivní (obvykle značenou velkým písmenem), jindy neaktivní (značenou malým písmenem). Jak doloží následující text, z téhož tradičního zápisu křížení vyplývaly pro oba alternativní výklady dědičnosti odlišné závěry.

Dojde-li ke změně znaku (například barvy oka z dominantní červené na recesivní rumělkovou), tak v souladu s hypotézou přítomnost – nepřítomnost došlo ke ztrátě čehosi, co považujeme za faktor pro červenou barvu očí. Když byl objeven mutant s růžovými očima, ukázalo se, že i tento znak je vůči červeným očím recesivní. Tradiční notace barevných mutantů octomilek by mohla být následující (Morgan 1913): Písmena RV vystihují červenou barvu očí, rV rumělkovou a Rv růžovou. Morgan zdůrazňuje, že přínos tohoto značení spočívá v možnosti vysvětlit výsledky některých pokusů.<sup>56</sup> Například je díky němu zřejmé, proč při křížení rumělkového a růžovookého jedince vznikne jedinec červenooký (rVRv). Komplikace však nastává, chce-li Morgan zapsat jedince vzniklé při křížení v F2 generaci: Označení jednoho z možných jedinců jako rv totiž není zcela uspokojivé, neboť takto vzniklý jedinec má oči oranžové. Morgan proto přidává do zápisu písmeno o a značí jej rVO. Kompletní zápis těchto mutantů tedy zní: RVO pro červenou, rVO pro rumělkovou, RvO pro růžovou a rvO pro oranžovou barvu očí. V dalších pokusech se objevila nová (žlutozelená) barva očí. Jedinec se žlutozelenými očima křížený s jedincem s oranžovými očima měl

---

pro rumělkovou. Ani v tomto případě, ani u poslední barvené mutace – červenobílé skvrnitého oka – žádné podrobnější informace v této době nejsou k dispozici.

<sup>56</sup> Morgan i další genetikové neustále připomínají, že faktory se používají zkrátka proto, že umožňují predikci. O jejich existenci se dovídáme jen díky jejich občasné nepřítomnosti.



červenooké potomky. Morgan z toho vyvozuje, že tento mutant obsahuje *R* a *V* a jeho vznik byl umožněn ztrátou imaginárního faktoru *O*. Žlutozelené barvě tedy odpovídá značení *RVo*, resp. v pozdější verzi zápisu *PVe*.<sup>57</sup>

V jakém smyslu představují tato písmena faktory? Morgan zdůrazňuje, že v duchu hypotézy přítomnost – nepřítomnost je rumělková barva výsledkem toho všeho, co zbývá, když dojde ke ztrátě čehosi, co označujeme jako *R*, resp. *P*. Symbol *O*, který dodatečně přidal do formulky, ale nepředstavoval další faktor, nýbrž barvu, která se nám ukáže, když ony dva faktory (*P* a *V*) chybí. Ukazuje se tedy, že *O* není srovnatelné s *P* a *V*. Ani význam těchto dvou písmen (*P* a *V*) však není jednoznačný: Písmeno *P* ve zjednodušené formulaci *vP* znamená ono reziduum, které dá ve výsledku růžovou barvu, ale ve *Vp* představuje *p* ztrátu jakéhosi *P*-faktoru, který je domnělou alelomorfou k *p*. Neboli písmeno *P* má dvojí význam: Jednou představuje *P*-faktor, který je součástí toho genetického rezidia, jednou reprezentuje ono reziduum celé. (Morgan 1913, s. 9)

### 3.2.3. Morganova úprava zápisu

Značení, které se podle Morgana vyrovná s tím, že do hry vstupuje třetí mutace téhož znaku, vypadá takto (Morgan 1913, s. 13–14): Symbolem faktoru podmiňujícího nový znak by mělo být první písmeno z jeho anglického názvu (tedy *P* pro růžový faktor – anglicky *pink*). Malé písmeno *p* představuje odpovídající faktor růžovookého mutantu. (Zda považujeme vznik růžového oka za změnu či ztrátu růžového faktoru, nehraje v této situaci roli.)<sup>58</sup> Podle tohoto přístupu se červenooký jedinec značí *PVE*, rumělkový *PvE*, žlutozelený *PVe* a růžový *pVE*. V uvedeném případě bylo použito velké písmeno pro dominantní formu znaku, avšak naprosto rovnocenný by byl i opačný přístup, kdy by dominantní formě příslušelo malé písmeno a recesivní formě velké. (Červená barva by pak byla značena jako *pve*, rumělková *pVe* atd.) Morganovi se každopádně zdá vhodnější první způsob.<sup>59</sup>

Morganův zápis tedy používá velké písmeno pro faktor, jehož změna dá vzniknout mutaci značené malým písmenem. (Malé *b* značí černou, velké *B* faktor, jehož změnou

---

<sup>57</sup> Místo *R* začal Morgan posléze užívat písmeno *P*, místo *O* zavedl písmeno *E*. Důvod je vysvětlen níže v textu.

<sup>58</sup> Morgan sice v této době kladně hodnotí hypotézu přítomnost – nepřítomnost, ale opakovaně upozorňuje na nutnost, aby mohla být notace aplikována bez ohledu na to, zda uvažujeme skutečnou ztrátu něčeho ze zárodečné plazmy. Je si totiž vědom případů, u nichž se zdá, že recesivní znak není skutečnou ztrátou.

<sup>59</sup> Morganův návrh nebyl ojedinělý, on sám upozorňuje na E. Baura a A. Hagedoorna, kteří přišli s podobnou úpravou. Od Morganovy se lišila jen jedním zanedbatelným detailem, že písmena neměla žádný vztah k názvu daného znaku. Při používání jejich notace tedy bylo nutné pamatovat si, co označují písmena *A*, *B*, *C*...

*b* vzniklo, obdobně *v* představuje rumělkovou a *V* faktor, jehož změnou *v* vzniklo.)

Pro naprostou srozumitelnost uveďme ještě jeden příklad: U octomilky byli objeveni i mutanti s neobvykle vyvinutými křídly. První nalezený měl výrazně zmenšená (miniaturní) křídla a Morgan jej značí písmenem *m*. Další mutant měl křídla zcela zakrnělá (rudimentární), proto mu přísluší symbol *r*. Při rekombinaci obou mutantů vznikla třetí forma značená jako *mr*. Celý zápis této řady mutantů tedy vypadá takto: normální genotyp *MR*, miniaturní křídla *mR*, rudimentární křídla *Mr*, rudiment – miniatura *mr*. (Morgan 1913, s. 14–15)

Přínos Morganova návrhu lze spatřovat ve dvou ohledech: Předně se jeho notace dá použít pro jakýkoliv počet mutací v daném orgánu. Tím se vyhneme nežádoucí situaci, kdy je při označování více různých mutantů tradičním způsobem použito jedno písmeno v různém kontextu s různými významy. Další nespornou výhodou Morganova zápisu je jeho nezávislost na tom, zda uvažujeme v duchu hypotézy přítomnost – nepřítomnost, či v souladu s alelomorfismem.

### 3.3. Reakce na Morganův návrh

Morganovy připomínky ohledně notace se setkaly s poměrně silnou odezvou. Někteří genetikové sice kritizovali jeho návrh, nicméně shodovali se s ním na potřebě úpravy mendelovské symboliky. Jiní badatelé proti Morganovi vystoupili, neboť v jeho návrhu viděli neopodstatněný zásah do relativně dobře fungujícího zápisu. Zde postačí soustředit se pouze na reakci W. E. Castla, který představuje první typ kritiky, a R. A. Emersona coby zastávce druhé strany, protože v jejich příspěvcích zaznívají všechny zásadní argumenty.

W. E. Castle, který se na Harvardově univerzitě věnoval genetice savců, považoval zápis mendelovských symbolů za problematický a snahu o nápravu uvítal. S Morganem se shoduje, že značení segregujícího dominantního a recesivního znaku velkým, resp. malým písmenem je adekvátní jen tehdy, bereme-li v úvahu jednotlivou změnu v určitém znaku. V situacích, kdy existují více než jen dva diferenciální faktory, přestává už být toto značení vhodné.

Za zdroj nynějších problémů s mendelovským značením považuje Castle hypotézu přítomnost – nepřítomnost, která dramaticky změnila význam malých písmen. Tato hypotéza totiž říká, že šedá barva myši není alelomorfou bílé, nýbrž že je alelomorfou „nešedé“. To je zcela nové pojetí malých písmen, neboť u Mendela označují písmena vždy nějaké skutečnosti: například *A* vrásčitost semen a *a* jejich hladkost. *A* sice znamená z hlediska hypotézy přítomnost – nepřítomnost vrásčitost, ale o *a* lze říci jen to, že je to „nevrásčitost“. Potíže tedy pramení z toho, že malá písmena ztratila svůj původní význam, ale poněvadž i nadále v zápisu

figurují, vyvolávají mylnou představu, že něco znamenají. Zásadní chyba spočívá podle Castla v užívání dvou symbolů pro každý rozdíl ve znaku (například pro hladký a vrásčitý povrch semen). Malá písmena v zápisu považuje za nadbytečná.

*„What we need first of all to simplify our present usage is to abandon the dual terminology. Where we are dealing with a single set of variations, let a single set of symbols suffice. Let us give up either the small letters or the large ones, it matters not which. If we retain A, then we have no need of a, for it is not, as Morgan at one time seems to assert and at another to deny, the “residuum” when A is lost; it means on the presence and absence hypothesis nothing but this, that A is not present. The rest of the organism is the ‘residuum’.”*

„Co musíme udělat nejdřív, abychom zjednodušili naši současnou praxi, je opustit dvojitou terminologii. Kde se pojednává o jednotlivé sadě změn, postačuje ponechat jednu sadu symbolů. Upustíme od malých nebo velkých písmen, je jedno kterých. Když ponecháme A, pak už nepotřebujeme a, neboť to není, jak Morgan střídavě tvrdil a pak popíral, ono ‚reziduum‘, když A chybí. V hypotéze přítomnost – nepřítomnost neznamená nic jiného, než že A chybí. Zbytek organismu je oním ‚reziduem‘.“ (Castle 1913, s. 172)

Castlem navrhovaná pravidla lze takto shrnout: 1) V případech, kdy existuje jen jedna odchylka od normálu, by se měl používat jen jeden symbol.<sup>60</sup> 2) Malé písmeno doporučuje vyhradit pro takovou odchylku od normálu, která se při křížení chová jako recesivní. Pro odchylku, která je při křížení s normální formou dominantní, je vhodné užívat velké písmeno. Když aplikujeme Castleovy zásady na různě zbarvené mutanty octomilky, dobereme se k následujícímu zápisu: Rumělková barva oka je značena v (místo PVE v Morganově podání), mutant růžovo-rumělkový pv (místo pVE), červený *normal* (místo PVE) atd. Vynechaná velká písmena zkrátka nejsou podle Castla důležitá, neboť znamenají jen negaci písmen malých.

Výhodu svého značení spatřuje Castle v tom, že se normální genotyp nezapisuje pomocí svých mutací, a nemusí se tudíž při objevu nových mutací stále přepisovat. (Starý způsob notace vyžadoval v okamžiku, kdy se objevila další mutace, jeho zápis změnit. Byla-li nová mutace při křížení s divokým typem recesivní, označila se malým písmenem. Pokud byla

---

<sup>60</sup> Morgan v následné polemice s Castlem vysvětluje, proč se nelze obejít bez zdvojených symbolů: Zápis jednoho písmene by neumožňoval postihnout heterozygotní formy, také v případě vazbových skupin by nešlo zapsat, které faktory jsou na jednom chromozomu a které odpovídající na chromozomu druhém. (Morgan 1913, s. 372–374)

Níže citovaný Emerson navrhuje odstranit tento problém Castleova zápisu zdvojováním velkých písmen u homozygotní formy. Psalo by se tedy například PPVO místo stávajícího PPVVOo. (Emerson 1913, s. 309) Sám ale připouští, že tento zápis také není moc vhodný: Jednotlivá písmena se totiž standardně užívají pro vystižení fenotypových rozdílů, zatímco dvojice písmen označují genotypové rozdíly. Z této notace by se proto nedalo poznat, zda je PVO jedinec vykazující tento fenotyp, nebo jedinec s tradičně zapsanou genotypovou konstitucí PpVvOo.

dominantní, použilo se písmeno velké.)

Ještě zásadnější výhoda tohoto zápisu spočívá podle Castla v tom, že tato notace pouze konstatuje stav a není zatížena předpoklady ohledně vysvětlení faktů:

*„It commits us to no physiological theory, but simply states facts. We are not required to suppose that the wild form contains a number of factors which by mutation have been lost. We may still do so, but we are not forced to do so. We are free to suppose with Morgan that merely a “readjustment” has taken place, and to make no assumption as to its nature, unless we choose to do so. This course does leaves the investigator free to frame such hypotheses as will from his point of view best meet the situation. ... That terminology evidently is most desirable which states demonstrated facts most clearly and simply, and makes fewest assumptions as to their explanation. Otherwise the investigator may be led to conclusions based on his terminology rather than his facts, and this can lead only to disaster.“*

„Tato forma zápisu nás neodkazuje na žádnou fyziologickou teorii, jen uvádí fakta. Nevyžaduje se od nás předpoklad, že v sobě divoká forma obsahuje určitý počet faktorů, které se při mutacích ztratily. Můžeme to předpokládat, ale nejsme k tomu nuceni. Jsme osvobozeni od toho, abychom společně s Morganem předpokládali, že došlo jen k jejich úpravě, a nemusíme se pouštět do žádných domněnek ohledně jejich povahy, pokud nebudeme chtít. Tento způsob ponechává badateli volnost ve výběru hypotézy, která z jeho pohledu nejlépe odpovídá situaci. ... Nejvíce žádoucí je pochopitelně taková terminologie, která uvádí demonstrovaná fakta nejjasněji a nejjednodušeji a činí nejméně předpokladů z hlediska jejich vysvětlení. Jinak vědec buduje své závěry spíše na terminologii než na faktech, a to může vést jen ke katastrofě.“ (Castle 1913, s. 180)

Z uvedeného je zřejmé, že na Castleově verzi zápisu byla asi nejpřitažlivější její jednoduchost. Velká nevýhoda této notace ale spočívala v tom, že byla aplikovatelná jen v patřičně jednoduchých případech. Morganova notace byla univerzálnější, neboť se dala použít i ve složitějších případech.

V květnu roku 1913 se do diskuse zapojil i R. A. Emerson studující dědičnost u kukuřice. Emerson se cítí zaskočen tím, že Morgan i další genetické považují úpravu mendelovské notace za nutnou, nicméně forma jejich návrhu se mu už tak překvapivá nezdá. Říká, že by sice zjednodušení stávajícího zápisu s povděkem přijal, ale muselo by se týkat všech typů dědičnosti. Vzhledem ke složitosti dědičnosti ve zjednodušení notace nevěří a navrhování nových formulek, které se dají využít jen v některých případech, nepovažuje za žádoucí.

Na Morganově verzi Emersonovi vadí především to, že písmena působí dojmem, jako by označovala znak místo toho, aby reprezentovala jeden faktor, který se na jeho utvoření spolupodílí. Řečeno jeho vlastními slovy:

*„Morgan’s trouble lies in the fact that he is attempting to force a letter to represent a character rather than merely one of the factors concerned in the development of that character or to represent the character and one of the factors. As a matter of fact, in the formula Pvo,*

*„Morganův problém spočívá ve snaze donutit písmena, aby znamenala buď spíše znak než jen jeden z těch faktorů zahrnutých do jeho vývoje, anebo aby znamenala znak a jeden z těch faktorů zároveň. Ve skutečnosti žlutozelenou barvu nepředstavuje ve formulce PVo písmeno o, ale PV*

*the character eosin is not represented by o but by PV when O is absent – with the addition, perhaps, of many factors as yet unknown. Similarly P does not stand for pink but for one of the factors concerned in the production of pink. ... No one has shown more clearly than Morgan that a character is not determined by a single factor. Why then should it be thought necessary to designate the first factor identified for any character, say pink, by the initial letter of that word? It is quite likely that P is no more important in the production of pink than is O ... Why should one suggest such character abbreviations as a revised Mendelian terminology when Mendelism is concerned fundamentally with gametic factor and only incidentally with the zygotic characters that happen to develop through the interaction of particular combinations of gametic factors in a particular environment?“*

v situaci, kdy O chybí. — Přičemž musíme připustit možný vliv dalších neznámých faktorů. Podobně P neznačí růžovou barvu jako takovou, nýbrž jeden z faktorů zahrnutých do její tvorby. ... Nikdo neukázal lépe než Morgan, že znak není určen jediným faktorem. Proč by se potom měl označovat první identifikovaný faktor podmiňující nějaký znak (např. růžovou barvu oka) prvním písmenem tohoto slova? Je docela pravděpodobné, že P není v produkci růžové o nic důležitější než O ... Proč by měl člověk používat zkratky vlastností, jak navrhuje ono revidované mendelovské značení, když se mendelismus týká primárně gametických faktorů a jen jakoby mimochodem zygotických znaků, které se vyvinou při interakci určité kombinace gametických faktorů v určitém prostředí?“ (Emerson 1913, s. 308–309)

Z těchto důvodů Emersonovi připadá vhodnější přidržet se značení, ve kterém figurují první písmena abecedy. Emerson odmítá Morganovu domněnku, že mendelisté nepřiznaně používají v zápisu písmeno ve dvou významech – někdy jako označení izolovaných faktorů, jindy jako symbol genetického pozadí organismu bez vypsání faktorů. Podle jeho názoru

*„The residuum left when any factor is lost is usually not represented except by the few factors that have been identified in it.“*

„reziduum, které zbývá, když je nějaký faktor ztracen, v zápisu zobrazeno není. Zachyceno je jen několik identifikovaných faktorů.“ (Emerson 1913, s. 308)

Kdybychom chtěli ono reziduum zohlednit, musel by podle Emersona mít mendelovský zápis podobu například  $PvOX_1X_2...X_n$ , kde by  $X_1-X_n$  představovaly dosud neznámé faktory.

### 3.4. Pojetí jednotky znaku a faktoru v rané genetice

Hlavním důvodem, proč se Morgan o změnu mendelovské notace pokoušel, byla potřeba přijít s notací, která bude dostatečně reflektovat význam pojmů faktor a jednotka znaku (*unit-character*). To stávající zápis neumožňoval a genetické mnohdy nedostatečně odlišovali vloh (faktor) a její viditelný projev. Za znak byla jednou považována přítomnost A, jindy třeba kulatost plodů.

V roce 1909 chápe Morgan používání faktorů jako pouhý formální záznam křížení:

*„In the modern interpretation of mendelism, facts are being transformed into factors at a rapid rate. ... The results are often so excellently ‘explained’ because the explanation*

*„Fakta se v moderní interpretaci mendelismu příliš rychle mění ve faktory. ... Výsledky jsou tak dobře ‘vysvětleny’, protože vysvětlení bylo vymyšleno, aby je vysvětlilo. Dopracováváme se od*

*was invented to explain them. We work backwards from the facts to the factors, and then, presto explain the facts by the very factors that we invented to account for them.*“

faktů k faktorům a potom rychle vysvětlujeme fakta těmi faktory, které jsme vymysleli, aby je popsaly.“ (Morgan 1909, s. 365)

Budeme-li podle Morgana používat faktory jen pro popis skutečnosti, nenastává žádný problém. (Zabýváme-li se křížením vysoké rostliny s rostlinou nízkou, vzniknou v F1 generaci všichni potomci vysocí a v F2 generaci  $\frac{3}{4}$  vysokých a  $\frac{1}{4}$  nízká. Řekneme-li, že za to může vysoký faktor a nízký faktor, budiž.) Avšak odvozujeme-li z toho, že v mnoha generacích buněk jedince F1 generace vedle sebe přebývaly dva faktory, nijak se neovlivňovaly a pak se zase oddělily, přehlízíme tím podle Morgana jiné možnosti, jak vysvětlit ony dva typy zárodečných buněk, které si mendelismus od jedince F1 generace žádá. Proto musí být naše představa segregace chápána jako čistě formální, dokud nevyloučíme ostatní možná vysvětlení.

V obdobném duchu hovoří Morgan i v roce 1915:

*„Mendel showed that the the numerical proportions, in which they appear, could be explained on the assumption of one factor difference between the original forms. This result might be interpreted to mean either that the two original germ cells, taken as a whole, represent such a factor difference; or it might be interpreted to mean that the original germ cells had one particulate difference.“*

„Mendel ukázal, že číselné poměry, které se při křížení objevují, mohou být vysvětleny na základě předpokladu jednofaktorového rozdílu mezi původními formami. Tento výsledek lze interpretovat buď tak, že dvě původní zárodečné buňky představují jako celek onen faktorový rozdíl, nebo že původní zárodečné buňky vykazovaly jeden rozdíl v podobě určité částice.“ (Morgan 1915, s. 144)

Tentokrát však doplňuje, že nedávné pokusy se dvěma, třemi a vícero rozdílnými znaky svědčí spíš pro druhou možnost.

Vztah faktoru a **jednotky znaku** (*unit-character*) popisuje Morgan následovně:

*„In his definition of mutation, de Vries supposed that a change in a unit factor involves all parts of the body. The germ cells may be thought of as a mixture of many chemical substances, some of them more closely related to the production of a special character, color, for example, than are others. If any one of the substances undergoes a change, however slight, the end product of the activity of the germ cell may be different. All sorts of characters may be affected by the change, but certain parts might be more conspicuously changed than are others. It is these more obvious effects that we seize upon and call unit characters. It is the custom of most writers to speak of the most affected part as a unit character, and to disregard minor or less obvious changes in other parts. They frequently speak of*

„Při definování mutace de Vries předpokládal, že se změna v jednotkovém faktoru dotkne všech částí organismu. Zárodečné buňky mohou být považovány za směsici chemických látek, z nichž některé jsou více spjaté s vytvářením určitého druhového znaku (například barvy) než jiné. Když se kterákoliv z těchto látek byť jen málo změní, výsledek aktivity příslušné zárodečné plazmy může být jiný. Tato změna se může dotknout všech znaků, některých částí ale více. A je to právě tento zřetelný účinek, kterého se přidržujeme a který nazýváme *unit-character*. Mnoho autorů si zvyklo hovořit o nejvíce ovlivněné části organismu jako o *unit-character* a přehlíží menší či méně zjevné změny v ostatních částech. Často mluví o *unit-character* jako o výsledku činnosti jednoho faktoru a zapominají, že

*a unit character as the result of a unit factor, forgetting that the unit character may be only one effect of the factor.*“

*unit-character* může být jen jedním z důsledků působení tohoto faktoru.“ (Morgan et al. 1915, s. 209–210)<sup>61</sup>

Pokud se mezi oběma pojmy nerozlišovalo, nebylo jednoznačné, co mendelovský zápis říká. Naléhavá potřeba zdůraznit, že notace vystihuje poměry mezi faktory (ať už jsou tyto faktory čímkoliv), a ne mezi děděnými znaky, je cítit i u jiných autorů včetně výše citovaného Emersona, u něhož se projevila deklarovanou nechutí vůči používání prvních písmen odvozených od anglického názvu příslušného znaku.

Z předešlé pasáže je také zřejmé, jakých různých významů mohla písmena v pracích různých autorů nabývat: Mendel používal malé a velké písmeno k zachycení přenosu dvojice znaků do nové generace, kde velké písmeno představuje faktor dominantně se chovajícího znaku, malé písmeno faktor pro recesivní z oné dvojice znaků. Tato notace se očima hypotézy přítomnost – nepřítomnost přeměnila do podoby „přítomný faktor – nic“, kde „nic“ představuje ztrátu, která podmiňuje změnu příslušného znaku. Morganův článek pak upozorňuje na další možný výklad jednotlivého písmene, které je jednou faktorem, podruhé „vším zbylým vyjma jednoho faktoru“. Tím je nastolena otázka, zda máme v mendelovské notaci spatřovat záznam celého genetického pozadí jedince, nebo zda jde jen o vystižení některých známých faktorů.

Nastíněná debata nad mendelovským záznamem se udála v době, které dominovala hypotéza přítomnost – nepřítomnost, tedy představa, že buď je v buňce jistý faktor přítomen, nebo chybí. Vzhledem k tomu, že užívaný zápis i ono nic zapisuje, je možné, že tato notace přispěla k vítězství představy, že se faktor při mutaci neztrácí, ale jen mění. Neboli že malé písmeno je zapisováno proto, že něco značí, a ne proto, že upozorňuje na to, co není. Zápis křížení pomocí velkých a malých písmen, který se uchoval z doby před příchodem hypotézy přítomnost – nepřítomnost, tak mohl usnadnit rozšíření a následné všeobecné přijetí alelomorfismu.

Na počátku druhého desetiletí 20. století tedy většina genetiků spatřuje v písmenech

---

<sup>61</sup> Stojí za zmínku, že *unit-character* nebyl zahrnut do nového slovníku anglického jazyka a G. H. Shull doporučil chybějící heslo doplnit v tomto znění: „V mendelovské dědičnosti znak nebo alternativní rozdíl jakéhokoli typu, který je buď přítomen, či chybí jako celek v každém jedinci, a který se může vyskytovat v nových kombinacích s jinými *unit-character*.“ (Shull 1915, s. 59) *In Mendelian inheritance a character or alternative difference of any kind, which is either present or absent, as a whole, in each individual, and which is capable of becoming associated in new combinations with other unit-characters.*

mendelovského zápisu faktory. Pojem faktor se ale dá chápat dvěma způsoby: Je možné říkat, že dva znaky (např. barva květů a výška rostliny) jsou podmíněné jednou fyzickou jednotkou segregace, která je schopna působit dvěma fyziologicky zcela odlišnými cestami. V tomto případě se rozumí pod pojmem faktor vývojová potencialita a vymezení faktoru je především otázkou vhodnosti pro potřeby dané analýzy. Alternativní přístup předpokládá, že pro každý znak existuje samostatná fyzická jednotka segregace. Faktor pak označuje tuto fyzickou jednotku segregace a má přesný, objektivní rozsah. Rostlinný genetik H. B. Frost soudí, že první varianta odpovídá pozici zastánců hypotézy přítomnost – nepřítomnost, pro které jsou faktory jen odvozené atributy zárodečné plazmy. Frost zdůrazňuje, že v tomto případě už nejde říkat, že je zárodečná plazma složená z faktorů. Jsou-li faktory znaky zárodečné plazmy, více či méně stylizované ve svém popisu, nejsme oprávněni je promítat do skutečné zárodečné plazmy a

*„assuming the presence and absence there of strictly corresponding material units of segregation. ... When we write down A and nonA, it involves no assumption as to what may be physically opposed, in the chromosomes, to the physical basis of A.“*

„předpokládat přítomnost či nepřítomnost odpovídajících materiálních jednotek segregace. ... Když napíšeme A a nonA, není v tom obsažen žádný předpoklad, co je v chromozomu fyzikálním opakem onoho fyzikálního základu A.“ (Frost 1917, s. 246)<sup>62</sup>

Logickým protikladem této hypotézy je alelomorfismus, který vychází z představy, že určitému faktoru přísluší vždy nějaký odpovídající faktor. V této situaci je přirozené uvažovat, že proti sobě stojící faktory nejsou jen pouhé potenciality, ale že to jsou skutečné fyzikální jednotky. (Za konečnou fyzikální jednotku segregace považuje kus chromozomu mezi dvěma sousedními místy, kde může dojít ke zlomu.) Podle Frosta jde o převažující pojetí faktoru, jehož synonymem je slovo gen.

Odlišné stanovisko k pojetí faktoru najdeme mj. v pracích jiného rostlinného genetika E. M. Easta, podle něhož nejsou faktory reálné, neboť jde o pouhý myšlenkový koncept.

*„Theoretical genes located in the germ cells replace actual somatic characters found by experiment. This is done wholly to simplify the description of the experimental results. If one finds that the expression  $DR * DR = 1DD + 2DR + 1RR$  adequately represents the facts in numerous breeding experiments, he is then able to use the knowledge and the expression in predictioning the results of*

„V mendelovském zápisu nahrazují teoretické geny situované do zárodečné buňky skutečné somatické znaky nacházené v experimentech. To se dělá pro zjednodušení popisu výsledků pokusů. Pakliže někdo považuje za adekvátní reprezentaci faktů při křížení výraz  $DR * DR = 1DD + 2DR + 1RR$ , potom je schopen použít svoje poznatky a tyto výrazy k předvídání výsledků podobných pokusů. Mendelismus je tedy

<sup>62</sup> Frost sám navrhuje, aby se v těch případech, kdy je absence faktoru A (tedy a) spojena s přítomností nějakého odpovídajícího faktoru A', používalo specifické značení.



*other similar experiments. Mendelism is therefore just such a conceptual notation as is used in algebra or in chemistry.*“

konceptuální zápis podobný tomu, jaký se používá v algebře nebo v chemii.“ (East 1912, s. 633)

S jeho pomocí si podle Easta nevytváříme opravdovou koncepci dědičnosti, ale jen model, který dědičnost pomůže zachytit a popsat.

*„A factor, not being a biological reality but a descriptive term, must be fixed and unchangeable. The term factor represents in a way a biological reality of whose nature we are ignorant just as a structural molecular formula represents fundamentally a reality, yet both as they are used mathematically are concepts.“*

„Faktor, který není biologickou skutečností, nýbrž popisným termínem, musí být fixní a neměnný. Termín faktor odráží jistým způsobem biologickou realitu, jejíž povahu neznáme, stejně jako představuje realitu strukturní molekulární vzorec. Nicméně v obou případech jde o matematicky užívané koncepty.“ (East 1912, s. 634)

O povaze dědičných jednotek píše East i v pozdější době, kdy už o nich hovoří jako o genech. Opět upozorňuje na tendenci spatřovat je konkrétněji, než je patřičné. (East 1929)

East spatřuje zásadní rozdíl mezi tím, hledíme-li na základní jednotku genetiky jako na nějaký gametický faktor, nebo jako na jednotku znaku. Slovu znak se snaží vyhnout, neboť od popisných standardů křížení je třeba vyžadovat neměnnost. Upozorňuje na nebezpečí, které skrývá situace, kdy začneme považovat znak za somatické vyjádření jednoho faktoru: Toto chápání vlastnosti zcela odhlíží od případů, kdy se na utvoření jednoho znaku podílí více faktorů.

Mezi genetiky ale nebyla zcela zavržena ani varianta, že základní prvek genetiky představují nezávisle děděné jednotky znaku. Pod písmeny A, B, C... je spatřuje například již zmiňovaný W. E. Castle. Klade si otázku, zda jsou znaky označované těmito symboly skutečně tak neměnné jako symboly samotné. Mnoho genetiků zastává názor, že neměnné jsou, poněvadž „roh je vždycky roh“. Na námitky, že se různé rohy liší barvou, velikostí či tvarem, reagují tak, že jde o nezávislé kvality, které se nedědí v rámci rohu samotného. Castle připouští, že není důvod, proč neoddělit velikost a tvar od rohu, když barvu orgánů od nich samých běžně oddělujeme. Dodává ale, že oddělíme-li takto všechny znaky, žádný roh nezůstane. Tuto nesrovnalost vysvětluje tak, že

*„The real unit-characters we deal with in actual breeding operations are differences in degree of horn-development, in length, thickness, curvature or coloration.“*

„skutečné jednotky druhového znaku, které pojednáváme ve kříženích, jsou totiž rozdíly v **míře** vývoje rohu, v jeho délce, tloušťce, zahnutí či zbarvení.“ (Castle 1912, s. 353)

Castle nepovažuje jednotky znaku za neměnné a vždy jasně separovatelné, nýbrž

za kvantitativní odchylky určitého znaku, tj. odchylky ve směru plus či minus. Ty se prý spojují do skupin, které se chovají, jako by byly jednou jednotkou.

Pojem jednotka znaku, který se užíval v rané transmisní genetice, do značné míry odsunul do pozadí poznání, že se na utvoření jednoho znaku podílí více faktorů. Gen zodpovědný za daný fenotypový projev byl totiž spatřován pouze v tom z mnoha faktorů, jehož změny jsme si povšimli v okamžiku, kdy sledovaný organismus pozbyl příslušného fenotypového projevu. Morganova kritika mendelovské notace upozorňuje právě na tento nežádoucí stav. Povědomí o tom, že při vytváření znaku je potřeba součinnosti více faktorů, se odráží v nově zavedeném pojmu genetického rezidua. Morgan tím upozorňuje na přehnané spojování jednoho konkrétního faktoru s jedním znakem a doceňuje význam ostatních faktorů, které se na tvorbě daného znaku podílejí.

V tomto ohledu můžeme Morganovo vystoupení chápat i jako upozornění na to, že geny nejsou důležité jen jako děděné jednotky, ale i jako determinanty vlastností, které nějak zajišťují jejich vývoj. Změna fenotypu spojená se změnou (či ztrátou) jednoho faktoru může být pochopena jako zastavení jeho vývoje na nějakém dřívějším stupni, než kterému by odpovídal původní fenotyp. (Každý gen umožňující jistý vývojový posun je přitom nezávislý na ostatních.) K tomuto výkladu se kloní R. Falk a S. Schwartzová (1993), kteří přímo hovoří o Morganově „hypotéze genového působení ve vývoji.“

## 4. Jevy odporující vztahu jeden znak – jeden faktor

Kapitola o mendelovské notaci naznačila, jak ochotně genetické v prvním desetiletí 20. století přijali představu, že jednomu znaku odpovídá jeden faktor, jehož změna způsobí změnu, příp. ztrátu tohoto znaku. Popsaná debata však zároveň ukázala, že již krátce po roce 1910 si mnozí genetické uvědomovali, že jde sice o představu lákavou, ale poněkud zavádějící, a snažili se zjednat nápravu. Za pravdu jim dávaly mj. přibývajících případy, kdy jeden jasně odlišitelný znak prokazatelně podmiňovaly dva faktory, případně i více faktorů současně.

### 4.1. Interakce genů

První rozsáhlejší studie o spolupůsobení několika faktorů se objevují okolo roku 1918. Zaznamenány byly interakce mezi faktory, které ovlivňovaly podobu hřebene u drůbeže, barvu srsti u hlodavců a barvu plodů dýně. (Ledebef 1932, s. 343) U octomilky byly nejprve známy čistě kumulativní účinky mutantních genů. Při nich výsledný projev odpovídal součtu působení jednotlivých genů. Následně byly popsány i disproporční kombinace účinků několika genů a také situace, kdy se viditelný projev způsobený určitým genem utvářel pouze v přítomnosti jiného genu. Jedním z těchto případů bylo utváření fenotypu *vortex*, kdy mají octomilky po stranách hrudi růžicovité chomáče z kratičkových chlupů.<sup>63</sup> Dále byl sledován fenotyp *ski*, kdy mají mutantní octomilky zadní část křídel zahnutou směrem vzhůru<sup>64</sup>, a fenotyp *semiforked*.<sup>65</sup> Z pozdějších prací sem spadá výzkum interakcí *ruffled* a *rounded*<sup>66</sup> nebo *bifid* a *Beadex*<sup>67</sup>, které ovlivňují tvar a jiné vlastnosti křídel.

---

<sup>63</sup> Pomocí zpětných křížení se ukázalo, že je fenotyp *vortex* („vír“) závislý na čtyřech genech, vázaných na tělních chromozomech. Nejzásadnější gen, bez něhož se *vortex* ani v náznaku neobjeví, je umístěný na druhém chromozomu. Sám o sobě ale příslušný fenotyp nevyvolá. (Bridges, Mohr 1919)

<sup>64</sup> Mutace *ski* je fenotypově velmi podobná mutacím *jaunty* a *curled*. Je podmíněna dvěma geny - dominantním *SiII* na druhém chromozomu a recesivním *siIII* na třetím chromozomu, z nichž ani jeden není schopný vyvolat tento fenotyp sám. (Clausen, Collins 1922) Podobného typu je i práce s mutanty *truncated* („useklý“), kteří mají kuželovitě tvarovaná křídla. (Altenburg, Muller 1920)

<sup>65</sup> V tomto případě recesivní gen ze třetího chromozomu ovlivňuje utváření štětín na hrudi a štítku samiček heterozygotních pro recesivní pohlavně vázaný *forked*. (Fenotyp *forked* je podmíněn faktorem na chromozomu X a je zodpovědný za překroucené a zkrácené štětiny. Samičky, které jsou heterozygotní pro tento gen, mají štětiny normálně utvářené.) Pokud jsou ale samičky s jednou mutací *forked* a jednou jeho normální alelou homozygotní pro výše uvedený modifikátor ze třetího chromozomu, pak je jejich vzhled intermediální. Tento

V průběhu 20. a 30. let bylo popsáno mnoho dalších případů, kdy se vlastnosti dvojitých mutantů lišily od souhrnu vlastností jednoduchých mutantů, na něž se daly rozčlenit. Genům, které vstupovaly do interakce s jiným genem a při společném působení měnily fenotyp, se obvykle říkalo **modifikátory**. V této době se neobjevují žádné významnější pokusy o vysvětlení, jak modifikátory fungují a co se při těchto genových interakcích děje. To je záležitost převážně 40. a 50. let a souvisí s teorií, podle níž jeden gen kontroluje tvorbu jednoho enzymu, potažmo jednu enzymatickou reakci. (O teorii „jeden gen – jeden enzym“, jak se jí obvykle říká, pojednává blíže osmá kapitola.) Článek B. S. Strausse (1955) pomůže udělat si představu o tom, jak tato vysvětlení vypadala.

Strauss ve svých úvahách vychází mj. z Delbrückových a Beadlových poznatků o multienzymatických systémech.<sup>68</sup> Na nich si všímá skutečnosti, že různé reakce bývají propojené společnými reaktanty, takže mechanismem interakce může být vzájemná inhibice paralelních reakčních systémů. Na existenci takové možnosti poukazují podle Strausse situace, kdy koncový produkt metabolického řetězce enzymaticky katalyzovaných chemických změn brzdí činnost enzymu působícího na výchozí substrát či někde v počátečních člancích.<sup>69</sup> Jedná se o případy, kdy výsledný produkt řady reakcí brání tvorbě

---

stav označuje Lancefield jako *semiforked*. Pokud mutace *forked* chybí, pak i když je jedinec *semiforked*-homozygotní, na jeho vzhledu se to nijak neprojeví. Samci nemohou být homozygotní pro tento modifikátor, a proto se u nich fenotyp *semiforked* nevyskytuje. (Lancefield 1918) (Samci octomilek nesou pohlavní chromozomy X a Y, samice mají dva chromozomy X.)

<sup>66</sup> Recessivní gen *ruffled* (*ru*) na čtvrtém chromozomu se stává v přítomnosti dominantního genu *rounded* (*R*) z druhého chromozomu neúplně dominantní. Tato změna vede k nové podobě křídla nazvané *roofed*. Tento případ je výjimečný tím, že interagující faktory neztrácejí svoji identitu, tj. nový znak se „přidá“ ke znakům podmíněným jednotlivými faktory, nepřekryje je. (Lebedeff 1932)

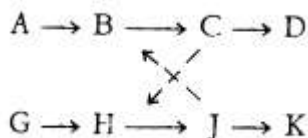
<sup>67</sup> Pohlavně vázaný gen *bifid* (*bi*) ovlivňuje žilkování křídel, *Beadex* (*Bx*) je pohlavně vázaná mnohočetná alelická řada vytvářející vroubkovaná křídla normální délky. (Jde o alely *Bxr*, *Bxl*, *Bx2*, *Bx3* a *BxJ*.) Kombinací *bifid* s pěti různými alelami *Beadex* se vytváří kvalitativně nové typy redukovaných křídel. (Waletzky 1939)

<sup>68</sup> Delbrück, M. Influence des gènes, des plasmagènes et du milieu dans le déterminisme des caractères antigéniques chez *Paramecium aurelia* (variété 4). In Unités biologiques douées de continuité génétique. Paris, Centre Nat. Rech. Sci., 1949, 25–26.

Beadle, G. W. Biochemical Genetics. *Chem. Revs.*, 1945, 37: 15–96.

<sup>69</sup> O inhibičním působení metabolitů pojednávají například tyto studie: Wolley D. W. A study of antimetabolites. New York, John Wiley and Sons, 1952. Adelberg, E. A., Umbarger, H. E. Isoleucine and valine metabolism in *Escherichia coli* V. A keto-isovaleric acid accumulation. *J. Biol. Chem.*, 1953, 205: 475–482.

svých prekurzorů či jejich většímu nahromadění. S touto situací se setkáme například u mutantů plísně rodu *Neurospora*, kteří jsou závislí na přísunu acetátu. Právě acetát v nich inhibuje hromadění pyruvátu. (Strauss 1955, s. 144) Schematicky vystihuje podstatu této inhibice následující obrázek.



Obr. 8 Vzájemná inhibice paralelních reakčních systémů. Čárkované šipky značí inhibici. (Strauss 1955, s. 143)

Podle Strausse je možné experimentálně ukázat, že změna genu přímo koreluje s dědičnou změnou v rychlosti příslušné dílčí reakce. Neboli geny podle něj kontrolují rychlost, s jakou probíhají dílčí biochemické reakce, které se následně spojují do multienzymatických systémů. V interakcích genů vidí Strauss interakce těchto reakcí.

*„The common feature of such schemes is that the gene interaction obtained is not in any sense an interaction of the genes themselves, but is rather an interaction of the gene-controlled step reactions in non-genic parts of the organism.“*

„Společným znakem všech těchto schémat je to, že dosažená genová interakce není v žádném smyslu interakcí genů samotných, ale jde spíše o interakci genem kontrolovaných dílčích reakcí v negenových částech organismu.“ (Strauss 1955, s. 146)

Strauss se opírá mj. o mutanty plísně rodu *Neurospora*, kteří neumějí přeměnit indol na tryptofan, protože postrádají potřebný enzym tryptofandesmolázu. U těchto mutantů byl zaznamenán supresorový gen, v jehož přítomnosti se tvorba tohoto enzymu, byť v menší míře, obnovuje. (Supresorové jsou takové geny, které vyruší účinek mutace, k níž došlo na jiném lokusu. Blíže se jim věnuje šestá kapitola.) Supresorový gen ale nebyl schopen podnítit tvorbu tryptofandesmolázy, pokud byla přítomna jiná alela genu, který je normálně za tvorbu enzymu zodpovědný a který má u mutantů podobu nefunkční alely.

*„This indicates that the suppressor gene alone is not responsible for the formation of tryptophan desmolase but rather that there is an interaction between the td2 allele and su resulting in enzyme formation.“*

„To ukazuje, že supresorový gen není sám o sobě zodpovědný za vytvoření tryptofandesmolázy, ale že jde spíše o interakci mezi alelou *td2* a supresorem *su*, která vyústí ve vytvoření enzymu.“ (Strauss 1955, s. 146)

Strauss dochází k závěru, že nealelické genové interakce jsou výsledkem interakcí probíhajících v rámci multienzymatických systémů i mezi nimi. Za hlavní kontrolní

mechanismus pokládá inhibici. Tento pohled ho vede k následujícímu pojetí divokého typu:

„*The wild-type may be defined as an organism whose gene-controlled multi-enzyme systems are in a state of balance.*“

„Divoký typ můžeme definovat jako organismus, jehož multienzymatické systémy kontrolované geny se nacházejí v rovnovážném stavu.“ (Strauss 1955, s. 148)

## 4.2. Pleiotropie

Kromě výše zmiňované skutečnosti, že se utváření jednoho znaku účastní několik faktorů (genů), se genetické potýkali i s opačnou situací – s vícenásobnou působností jednoho genu. Uvědomíme-li si, že počet pozorovatelných vlastností organismu je prakticky nekonečný, zatímco genů je omezené množství, je tato nesrovnalost zřejmá. Situace, kdy gen neovlivňuje jen jeden orgán či jednu vlastnost, nýbrž několik najednou, byla známa od samého zavedení pojmu gen. Pro tento fenomén se ujal označení **pleiotropie**.

„*Genes of this type which affect more than one organ system have been called pleiotropic by Plate (1910, 1913). Haecker (1925) proposed the term polyphaen for the same phenomenon; this term, however, has not come into general usage.*“

„Takovéto geny, které zasahují více než jeden orgánový systém, označil Plate v roce 1910 a 1913 jako pleiotropní geny. Haecker v roce 1925 zavedl pro tentýž jev pojem *polyphaen*, který se však neujal.“ (Caspari 1952, s. 1)<sup>70</sup>

Vysvětlit působení pleiotropního genu není v některých situacích obtížné. Příkladem může být gen *albino*, který se projevuje na zbarvení srsti, očí a dalších částí těla. Ve všech případech je možné říci, že došlo k potlačení tvorby pigmentu, ať už by měl být vytvořen kdekoliv. Ne vždy je ale situace srovnatelně jednoduchá.

Je známo, že mnoho mutací ovlivňuje obecné fyziologické znaky, jako je velikost, plodnost, životnost, doba vývoje apod. Tyto vlastnosti *de facto* vykazují polygenní dědičnost, přičemž některé z těch zúčastněných genů jsou dobře známy svým jasným fenotypovým projevem v jiné oblasti. E. Caspari proto přichází s hypotézou, že všechny geny ovlivňují všechny obecné fyziologické znaky. (Caspari 1952, s. 14) Zjednodušeně se však dá říci, že každá mutantní alela pleiotropního genu ovlivňuje výrazně určitý počet vlastností, zatímco jiné ponechává nezměněné. E. Hadorn (1945)<sup>71</sup> proto hovoří o „rozložení projevu“

---

<sup>70</sup> Plate, L. Vererbungslehre und Deszendenztheorie. In Festschrift für Richard Hertwig II, Jena, Fischer, 1910, 537–610. Haecker, V. Pluripotentscheinungen. Synthetische Beiträge zur Vererbungs- und Abstammungslehre. Jena, Fischer, 1925.

<sup>71</sup> Hadorn, E. Zur Pleiotropie der Genwirkung. Archive der Julius Klaus-Stiftung für Vererbungs-forschung, Spec. Supplement, 1945, 20: 82–95.

pleiotropního genu, pod něj spadá jednak konkrétní změněný orgán a jednak to, jak byl změněn. (V anglicky psané literatuře se pro toto rozložení projevu užívá označení *pattern of manifestation*, kterého se přidržuje i tato práce. Tento pojem by se mohl přeložit jako fenosyndrom.) Hadorn upozorňuje, že *pattern of manifestation* nemůže odhalit celou působnost daného lokusu, protože ukazuje jen rozdíl v působnosti dvou alel, tj. rozdíl mezi mutantní a divokou alelou. Za tímto rozdílem, kterým se od sebe tyto dvě alely odlišují (nazývá jej *differential pattern*), je skryt ještě tzv. *residual pattern* genového působení, jenž je společný jak mutantovi, tak divokému typu, a který tudíž nemůžeme pozorovat. (Caspari 1952, s. 3)<sup>72</sup>

Nabízí se otázka, zda je vůbec možné zjistit celkovou aktivitu genu. Caspari se domnívá, že by tomu mohlo pomoci studium ztrát malých částí chromozomu, ne o mnoho větších než jeden lokus. Toto řešení zmiňuje i Hadorn, ale upozorňuje na potíž, že mutanti octomilky s delecemi umírají velmi záhy, a proto se projev příslušného genu v pozdějších vývojových stádiích nedá zachytit.

Vzhledem k tomu, že se *pattern of manifestation* dá navodit změnou okolních podmínek jako fenokopie (např. teplotními šoky působícími na zárodek), soudí Caspari, že mezi různými pleiotropními efekty určitého genu musí existovat vývojový vztah. Jako příklad zcela jasného vývojového propojení pleiotropních vlivů jednoho genu uvádí achondroplazii krysy (mutanti *my*), hydrocefalus myši (mutanti *ch*) a dále mutantní gen *frizzle*, který vede u kuřat ke ztrátě peří. (Caspari 1952, s. 4–6) V posledním případě se jedná o tzv. sekundární pleiotropii, neboť

*„the manifold effects of a pleiotropic gene are subordinated consequences of a single primary action. This primary activity may affect every cell in the body. There is evidence that in all tissues of a+ larvae kynurenin is formed, and that its formation is blocked in all cells in aa larvae. The phenotypic manifestation pattern, i.e., the distribution of pigment in the animal, is due to the fact that different types of cells acquire at different stages of development the ability of reacting on presence of kynurenin with pigment formation. In this case, therefore, every cell seems to be primarily affected by the allele a.*

„mnohočetné projevy pleiotropního genu jsou podřazenými důsledky jednoho primárního působení. Primární aktivita toho genu může ovlivňovat jakoukoliv buňku v těle. Existují důkazy, že ve všech tkáních larev s genotypem a+ se tvoří kynurenin, zatímco ve všech tkáních larev s genotypem aa je jeho tvorba zablokována. Fenotypový *pattern of manifestation*, tj. distribuce pigmentu ve zvířeti je způsobena tím, že různé typy buněk nabudou schopnosti reagovat na přítomnost kynureninu tvorbou pigmentu v různých stádiích vývoje. V tomto případě je každá buňka patrně primárně ovlivněna alelou a. V jiných případech

<sup>72</sup> Skutečnost, že působnost lokusu nemůžeme zachytit v jeho úplnosti, neboli že *pattern of manifestation* nevyčerpává celou působnost genu a ponechává mimo náš dosah jeho „reziduální“ působení, poněkud komplikuje snahy porozumět genům. Této obtíže se dotkli již klasičtí genetikové. Problém nezachyceného rezidia a jeho zohledňování se odráží v interpretaci mendelovské notace, o níž pojednávala předchozí kapitola.

*In other cases (achondroplasia in the rat, hydrocephalus in the mouse) it is a particular tissue which is affected at a particular time of development in a particular manner.*“

(jako je achondroplazie krysy či hydrocefalus myši je to určitá tkáň, která je v jistém okamžiku vývoje ovlivněna jistým způsobem.“ (Caspari 1952, s. 7)

Caspari ještě dodává, že primární vliv genu může být tkáňově specifický, nebo je specifický přímo ve vztahu k určitým buňkám, nikdy však nejde o orgánovou specifičnost. Ta je jen sekundárním důsledkem rozdílů v tkáních různých orgánů. Zatímco Hadorn uvažoval o možnosti, že by jeden gen mohl mít různý primární vliv na různé typy buněk, Caspari to s poukazem na chybějící doklady odmítá.

V pracích některých autorů se můžeme setkat s rozlišením dvou typů pleiotropie: pravé (*genuine*) a nepravé (*spurious*, tj. zdánlivý, předstíraný). Pravá pleiotropie označuje stav, kdy jeden a tentýž gen vykazuje několik různých primárních aktivit. **Nepravá pleiotropie** značí, že gen vykazuje jediné primární působení, které prostřednictvím různých vývojových mechanismů ovlivní několik orgánových soustav. Konkrétní případy uváděné v citovaném Caspariho článku spadají právě do této kategorie.

O vysvětlení pleiotropie se snaží i H. Grüneberg (1938). Rozlišuje tři způsoby, jak může gen podnítit dva různé projevy: První možnost spočívá v tom, že daný gen přímo vyvolává dva různé projevy, a to každý jiným způsobem. Ve druhém případě vyvolává gen tyto projevy také přímo, přičemž cesta, kterou tak činí, je v zásadě pro oba projevy stejná. Třetí možnost je ta, kdy gen podnítí bezprostředně jeden projev, který pak za určitých podmínek vyvolá v návaznosti na něj další projev. V tomto případě jde tedy o kauzální propojení obou projevů genu.

Grüneberg odlišuje i pleiotropii v čase a pleiotropii v prostoru. V případě, že je primární vliv genu stále znatelný při současném vývoji druhého projevu téhož genu, hovoří o pleiotropii v prostoru. Je-li pozorovatelný nejprve primární vliv daného genu a následně jen vliv sekundární, označuje to jako pleiotropii v čase. (Grüneberg 1938, s. 124)

Vlastní Grünebergovy pokusy věnované této problematice se zaměřují na letální mutaci u potkana, která je provázena rozmanitými projevy – světle růžovým zbarvením očí, narušeným vývojem chrupavek, abnormálním utvářením hrudníku a tvaru čenichu a hypertrofií pravé srdeční komory. Grüneberg vysvětluje tento případ v duchu třetího zmiňovaného typu pleiotropie a vytváří kauzální schéma, v němž jsou propojeny jednotlivé projevy tohoto letálního faktoru. Dochází k závěru, že projevy genu, které jsou ve schématu od primárního genového působení dál, jsou víc a víc variabilnější a celkově náchylnější podléhat vlivům prostředí než ty, které jsou mu blízké. V obdobném duchu jako



Grünebergovy studie se nese i práce L. C. Dunna a S. Glücksohn-Schönheimera (1945), která se soustředovala na výzkum myšího syndromu podmíněného mutací *Sd*. (Syndromem se rozumí soubor anomálních vlastností, které se vyskytují společně.) Jinou variantu pleiotropie, kdy je dvou různých projevů docíleno téměř stejnou cestou, dokumentuje práce W. Landauera a E. Uphama (1936) na mutaci *frizzle* u kuřat.<sup>73</sup>

Z hlediska činnosti genů je významný Grünebergův náhled, že vlastnosti používané v mendelovských analýzách bývají leckdy hodně vzdálené od „původního“ (primárního) genového působení.

*„Such variable characters are often referred to in the literature as due to "weak" genes with incomplete manifestation. It seems likely that a gene is never "weak" as regards its basic action, though this will often be unobservable, and that only the remote consequences of gene action are liable to modification.“*

„V literatuře se tyto proměnlivé znaky obvykle připisují ‚slabým‘ genům s neúplnou manifestací. Zdá se však, že geny nejsou nikdy s ohledem na svoji základní působnost ‚slabé‘, byť se ta jejich primární působnost často nedá pozorovat, a že jen vzdálenější důsledky genového působení podléhají víc změnám.“ (Grüneberg 1938, s. 140)<sup>74</sup>

Velmi zásadní otázkou bylo, zda vůbec existuje první typ pleiotropie, kdy jeden gen přímo působí v několika odlišných směrech. Všechny výše uvedené případy pleiotropie totiž zachovávají jakousi jednotu působení genu a představují případy nepravé pleiotropie. Podle Grüneberga není znám žádný případ pravé pleiotropie. Vzhledem k tomu, že se dá leccos kauzálně propojit a vysvětlit v rámci pleiotropie nepravé, domnívá se, že by ji bylo navíc velmi obtížné prokázat. (Grüneberg 1938, s. 141)

*„As unity of gene action is the simpler conception, and as it has been shown to explain fully analysed cases, it may be adopted as a general principle unless and until the occurrence of genuine pleiotropism can be conclusively demonstrated.“*

„Jednota genového působení je jednodušší koncepce, u které se ukázalo, že zcela vysvětluje zkoumané případy. Můžeme ji proto přijmout jako obecný princip, dokud nebude prokázána existence pravé pleiotropie.“ (Grüneberg 1938, s. 142)

---

<sup>73</sup> Dunn, L. C., Glücksohn-Schönheimer, S. Dominance Modification and Physiological Effects of Genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1945, 31 (2): 82–84.

Studovaná mutace myši se s ohledem na délku ocasu chovala jako dominantní, vzhledem k letálnosti jako recesivní a při ovlivňování vývoje urogenitálního traktu vykazovala neúplnou dominanci.

Landauer, W., Upham, E.: Weight and size of organs in frizzle fowl. *Storrs Agricultural Experiment Station Bulletin*, 1936, 210.

<sup>74</sup> „Původní“ či „základní“ genovou působností rozumí Grüneberg časné stadium působení genu. Toto působení nemusí být vůbec morfologicky uchopitelné, na rozdíl od koncového produktu působení genu, které obvykle bývá.

S Grünebergovým závěrem, že pravá pleiotropie patrně neexistuje, se ztotožňuje i Caspari, který oceňuje především jeho heuristickou hodnotu.

*„It requires that in cases of pleiotropism developmental relations between the different characters should be looked for. Actually, a large number of embryological facts have been discovered by this method.“*

„Vyžaduje to, abychom u pleiotropie hledali vývojové vztahy mezi různými znaky. Mnoho embryologických poznatků bylo získáno právě tímto způsobem.“ (Caspari 1952, s. 7)

Jedním dechem však dodává, že pravá pleiotropie tím není nutně vyloučena. Jen ji vzhledem k naší neznalosti primárního působení genů nemůže demonstrovat. Caspari si je tedy vědom toho, že chápání pleiotropie jako vývojovými procesy propojeného sledu změn nemusí být nutně pravděpodobnějším či nejlepším vysvětlením. Kloní se k němu hlavně proto, že umožňuje směřovat další bádání o pleiotropii.

Při vysvětlování nepravé pleiotropie vychází Caspari z předpokladu, že podstata primárního genového působení je určitá biochemická změna, která podnítl další (sekundární) změny. Caspari se domnívá, že biochemické reakce a následně i biochemická konstituce organismu jsou dosti labilní a přístupné i vlivu prostředí. Skutečnost, že mutace nejsou vždy letální, svědčí podle něj o tom, že je normální průběh reakcí do jisté míry chráněn před narušením, mj. dvojitým zajištěním téhož procesu. Normálního fungování se proto dá dosáhnout za různých genetických okolností. Každopádně každý mutant má podle Caspariho svoje environmentální optimum. (Caspari 1952, s. 15)

Zajímavý pohled na pleiotropii nabízí studium pleiotropních vlivů mnohočetných alel. Mezi mnohočetnými alelami nedochází ke *crossing-overu* a tyto alely ovlivňují stejný znak. V případě, že se tento znak dá kvantifikovat, tj. alely podmiňují různou míru tohoto znaku, dají se uspořádat do řady podle vzrůstajícího vlivu. Z různých studií Casparimu vyplynulo, že ne vždy byly jejich účinky seřazeny ve stejném pořadí, neboli vztahy dominance / recesivity mezi různými pleiotropními vlivy téže alely nebyly pořád stejné, ale měnily se. Různé pleiotropní účinky také reagovaly odlišně na modifikátory dominance a na vlivy okolního prostředí. Na rozdíl od Caspariho předpokládá Grüneberg, že v sérii navzájem si podřazených pleiotropních účinků budou účinky ontogeneticky dřívější vykazovat jasnou dominanci, zatímco projev těch, které jsou více závislé na předchozích, bude variabilnější.

Případy, které nehověly zjednodušenému pohledu transmisní genetiky, podle něhož odpovídá jednomu genu jedna vlastnost, ukazovaly na přehlížení role genu při vývoji znaku.

Jevy, které na toto opomíjení upozorňovaly, byly genové interakce a pleiotropie genů. Pro jejich vysvětlování získali genetické oporu až ve 40. letech v teorii jeden gen – jeden enzym. Se skutečností, že mnoho vlastností bývá podmíněno stejným genem, se vyrovnali odmítnutím existence pravé pleiotropie. Popsané případy považovali za nepravou pleiotropii, při níž jsou spolu vývojově spjaty na první pohled zásadně odlišné projevy jednoho genu.

Má-li gen jedno primární působení, jsou jeho ostatní působení jen následkem tohoto primárního. Vývojový vztah, který předpokládáme mezi jednotlivými pleiotrofními účinky genu, v zásadě vychází z představy, že gen spouští kaskádu změn. Pleiotrofní gen není za všechny své projevy zodpovědný „přímo“, jeho mutace jen rozběhne sled několika změn. Spočívá-li primární genové působení ve vyvolání určité biochemické změny, odpovídá sekundární působení reakci spouštěné právě touto změnou. Jeden metabolický krok tak nepřímo podněcuje změnu jiných reakcí. (Jako příklad poslouží Casparim doložené zvýšené množství tryptofanu v mutantech rodu *Ephesia*, které je podmíněno zablokováním přeměny tryptofanu v kynurenin.) Předpoklad nepravé pleiotropie tedy povzbudil genetiky k hledání vývojových spojení mezi jednotlivými účinky pleiotrofních genů, a přispěl tak k prohloubení biochemického výkladu genového působení.

## 5. Subgenová hypotéza

Ve 30. letech 20. století přispěla k úvahám o genu ruská škola v čele s A. S. Serebrovským, N. P. Dubininem a I. J. Agolem. Jejich koncept genu byl dobře známý i za hranicemi tehdejšího SSSR, a to díky H. J. Mullerovi, který v Rusku nějaký čas působil. (Muller přišel do SSSR z Berlína v roce 1933 a pracoval nejprve v Genetickém institutu v Leningradě, než byl institut v následujícím roce přesunut do Moskvy. V Sovětském svazu setrval až do roku 1937.) Jejich práce upozorňují na zvláštní prostorové uspořádání alelomorf v chromozomálním úseku, kterému se obvykle říká gen. Poskytují alternativu k tradičnímu pohledu na gen a výrazně mění pojetí alel a tzv. pseudoalel. Právě téma pseudoalelismu, kterému se blíže věnuje sedmá kapitola, je pro tuto disertaci zásadní. Proto je důležité zmínit zde i ruskou školu.

Představa, že jsou alely uspořádány zvláštním způsobem, který s trochou fantazie připomíná schodiště, se odrazila v označování této teorie: V anglických překladech je známa jako „*step allelomorphism hypothesis*“, někdy se nazývá též „*sub-gene theory*“, v německém prostředí „*Treppenallelen*“. Tato práce se přidržuje nejschůdnějšího českého překladu „subgenová hypotéza“.

Z významných genetiků choval k této hypotéze sympatie především Richard Goldschmidt, známý zastánce názorů vymykajících se převažujícímu pohledu na geny. V subgenové hypotéze viděl odklon od korpuskulárního genu a v tomto smyslu ji přirovnával ke konceptu genové dávky. (Podle tohoto konceptu jsou mnohočetné alely různé kvantitativní genové substance.) (Goldschmidt 1954, s. 708) Goldschmidtovy názory související s touto hypotézou nalezne čtenář v kapitole o pseudoalelismu.

### 5.1. Základní poznatky o lokusu *scute*

Subgenová teorie byla vypracována na základě studií lokusu *scute* na distálním konci chromozomu X octomilky. V souladu s dnešním výkladem se jedná o komplex *achaete-scute* (AS–C), který zahrnuje čtyři geny kódující transkripční faktory *bHLH* rodiny, přičemž jedinci se zmutovaným komplexem jsou většinou životaschopní. Mutace ve *scute* ovlivňuje utváření štětín, které se mohou obzvlášť nápadně vyvinout na štítku středního hrudního článku (latinsky *scutum*). *Achaete* („bez štětín“) ovlivňuje především tvorbu drobnějších štětín. Zhruba od poloviny 70. let 20. století se intenzivně studuje individuální vývoj jednotlivých okrsků štětín na těle octomilky. (Campos-Ortega 1998, s. 291–292)

Mutaci *scute* vyvolal N. P. Dubinin v roce 1929 ozáření jedinců octomilky rentgenovým zářením, což byla tehdy poměrně nová metoda. (První umělou mutaci indukoval pomocí rentgenového záření H. J. Muller v roce 1927.) Mutace vykazovaly výraznou fenotypovou specifičnost: Ovlivňovaly přesně vymezenou skupinu štětín, a to tak, že v různých částech těla omezovaly jejich utváření. Dubinin tyto mutace označil *scute1*, *scute2* a *scute3*, přičemž čísla odrážela pořadí, v němž byly mutace objeveny. Při křížení jedinců nesoucích různé alelomorfy, které ovlivňovaly částečně se překrývající skupiny štětín, zaznamenal následující stav. Heterozygoti měli vyvinuté ty štětiny, které byly typické jen pro jednu z obou alelomorf, a postrádaly štětiny, jejichž utváření ovlivňovaly obě alelomorfy. Jinými slovy pozorované mutace vykazovaly částečnou reverzi k normálnímu typu, při níž měli kříženci vyvinuté vlastnosti společné oběma alelomorfám. Vlastnosti specifické jen pro jednu z těch mutací znát nebyly. To uvádí Dubinin a jeho spolupracovník I. J. Agol jako důkaz, že objevené mutace nebyly zcela alelomorfni. (Agol 1931, s. 255) Dubinin posléze objevil i alelomorfy, které ovlivňovaly jen nepřekrývající se skupiny štětín. Když zkřížil octomilky nesoucí tyto alelomorfy, vykazovali výslední heterozygoti (pozice *trans*) normální fenotyp.

Různé kombinace vlastností v různých mutacích *scute* umožnily uvedeným vědcům rozlišit v rámci celého regionu *scute* několik úseků. Pro vysvětlení popsaného chování alelomorf předpokládal Dubinin, že gen *scute* sestává z několika subgenů, které kontrolují vývoj vždy určité skupiny štětín. Dodával, že *scute* a oblast *achaete* mohou některé subgeny sdílet.<sup>75</sup> Dubinin rozlišil na *scute* následující schodišťové uspořádání subgenů:<sup>76</sup>

*yellow*

*scute3*

*scute1*

*scute2*

S menším časovým odstupem byla objevena i mutace *scute5* (A. E. Gaissinovichem) a *scute6* (A. S. Serebrovským), která se ukázala být pro pokusy obzvlášť vhodná. Redukované štětiny měl i mutant nalezený v potomstvu *yellow* samce vystaveného na dvě hodiny

---

<sup>75</sup> Agol, z jehož článku následující text především vychází, hovoří v tomto kontextu o tzv. částečných alelomorfách (*partial allelomorphs*). (Agol 1931) Synonymem pro částečnou alelomorfu tvořenou několika subgeny byl transgen.

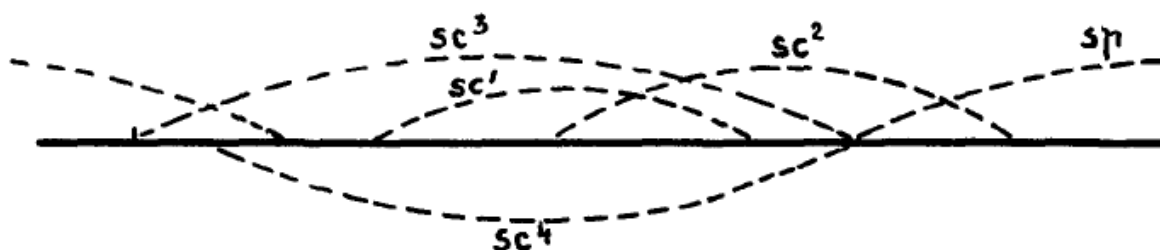
<sup>76</sup> S tímto schématem koresponduje pozdější snaha A. S. Serebrovského uspořádat štětiny do lineárního pořadí, které by odpovídalo lineárnímu uspořádání příslušných subgenů. Serebrovsky vymezuje například úsek dorzocentrální, supraalární apod.

rentgenovým paprskům. Tato mutace byla označena *scute4* a i ona byla jen částečně alelomorfni vůči dosud známým transgenům typu *scute*.<sup>77</sup> (Agol 1931, s. 256)

*„The comparative study of the action of each separate transgene,  $s_c^1$ ,  $s_c^2$ ,  $s_c^3$  and  $s_c^4$  together with the action of each in compound with transgene  $s_c^4$ , leaves no doubt that the transgenes examined are not altogether allelomorphic in relation to each other. The reversal to the wild (normal) type always follows in that district, where the separate members of the compound exhibit different phenotypical manifestations. The comparative study of compounds of *scute4* and the other transgenes of type *scute* permits the establishment of a row of basic (elementary) districts, which enter as components in some transgenes and are not acted upon in others.“*

„Srovnávání působnosti každého jednotlivého transgenu *scute1*, *scute2*, *scute3* a *scute4* a působení každého uvedeného společně se *scute4* nás nenechá pochybovat o tom, že studované transgeny nejsou k sobě navzájem alelomorfni. Návrat k divokému (normálnímu) typu byl zaznamenán vždy v té oblasti, kde jednotliví členové té kombinace vykazovali různý fenotyp. Srovnávací studie kombinací *scute4* a ostatních transgenů typu *scute* dovoluje vymezit řadu základních (elementárních) oblastí, které vystupují v některých transgenech jako jejich komponenty, zatímco v jiných nefigurují.“ (Agol 1931, s. 260)

Lepší představu o vzájemném vztahu jednotlivých transgenů *scute* poskytne následující schéma.



Obr. 9 Agolova přestava, jak se překrývají částečné alelomorfy *scute* (*sc*). (Agol 1931, s. 263)

## 5.2. Představa genu očima subgenové hypotézy

Výše popsané poznatky s sebou nesou jisté teoretické důsledky, čehož si jsou autoři subgenové hypotézy dobře vědomi. Změny, které vnáší do pojetí genu, přibližuje následující citace:

*„We first arrive at the conclusion that the gene is not, at least not always, something homogeneous, indivisible, but may be represented by a complex organization, composed of separate districts joined with each other, each possessing its specific action. The connection between districts is constant in each separate transgene.“*

„Nejprve dojdeme k závěru, že gen není (alespoň ne vždy) něco homogenního, nedělitelného, nýbrž že si jej můžeme představit jako složitou strukturu tvořenou ze vzájemně propojených separátních oblastí, které vykazují specifické funkce. Propojení mezi jednotlivými oblastmi je pro každý transgen stále stejné. Jinými

<sup>77</sup> V případě *scute4* bylo ale poměrně obtížné stanovit pomocí *crossing-overu* pozici tohoto mutantu v nastíněné řadě alelomorf. Agol později zjistil, že zahrnuje všechny oblasti okupované ostatními alelomorfami typu *scute*, vyjma malé části *scute2*.

*In other words each given transgene possesses a definite number of districts in some way joined with each other ... The theory of the linear arrangement of genes is based on the phenomenon of linkage which was investigated by means of crossing over. This method unfortunately could not be used, since there is no practical way of obtaining crossing over between the separate districts, because of their very close proximity to each other. Our investigation of the special position of step allelomorphs was based on the facts of partial allelomorphism and on the consideration of the basegene, as a complex structure made up of separate components closely joined with each other. The character of the attachment between the separate districts has an important bearing on the problem of the special structure of the gene. The action of each district doubtless depends on the action of the chromosome as a whole, but at the same time it is independent to such a degree that it retains its individuality in every genotypic combination.*“

slovy konkrétní transgen má vždy určitý počet oblastí, které jsou spolu nějak propojeny. ... Teorie lineárního uspořádání genů stojí na studiu vazby genů pomocí *crossing-overu*. Tuto metodu nemůžeme bohužel použít, neboť neexistuje žádný způsob, jak docílit *crossing-overu* mezi těmito separátními oblastmi, a to kvůli jejich přílišné blízkosti. Naše zkoumání zvláštního postavení těchto alelomorf se opíralo o částečný alelomorfismus a o představu jakéhosi bazálního genu (*basegene*), komplexní struktury tvořené samostatnými, ale navzájem úzce propojenými komponenty. Pro představu o struktuře genu má velký význam povaha propojení těchto oblastí. Působení každé oblasti samozřejmě závisí na působení chromozomu jako celku, ale zároveň je na něm do takové míry nezávislé, že se individualita dané oblasti uchovává v jakémkoliv genotypovém prostředí.“ (Agol 1931, s. 263–264)

Vývody plynoucí ze subgenové hypotézy se dotýkají nejen pojetí genu, ale samozřejmě i alelomorf. Je-li v jednom „bazálním genu“ (*basegene*) mnoho jednotlivě vystupujících oblastí, je velmi malá pravděpodobnost, že by se v nich nastalé změny mohly někdy zároveň přesně zopakovat. Proto Agol očekává, že vznikající alelomorfy nejsou úplné, tj. že se shodují jen v některých svých oblastech.

*„The conception of the gene, as of a complex structure, composed of separate comparatively independent districts, makes it necessary to revise the traditional view of allelomorphism. We may consider as allelomorphs not only those genes which coincide throughout their extent and do not allow any reversal to the wild-type in compounds, but also those genes which coincide only in one or several districts and which produce a partial reversal to the normal (wild) type in compounds ... We can assume theoretically a long stair of allelomorphs, which gradually pass from one gene into another and extend throughout the entire length of the chromosome. Two different genes not allelomorphic in relation to each other may be partial allelomorphs in relation to another gene, for instance, spoon and scute1, in relation to scute2.*“

„Koncept genu jako komplexní struktury složené ze separátních, srovnatelně nezávislých oblastí si vynucuje revizi tradičního pohledu na alelomorfismus. Za alelomorfy můžeme považovat nejen ty geny, které se shodují ve svém rozsahu a nepřipouští (vyskytnou-li se společně) jakoukoliv reverzi směrem k divokému typu, ale také ty geny, které se spolu shodují jen v jedné nebo několika oblastech a které společně podmiňují částečnou reverzi k divokému typu. ... Můžeme teoreticky uvažovat o dlouhém schodišti alelomorf, které postupně přecházejí z jednoho genu do druhého a které se rozprostírají po celé délce chromozomu. Dva různé geny, které k sobě navzájem nejsou alelomorfni, mohou být částečně alelomorfni vůči jinému genu, což platí například pro *spoon* a *scute1* vzhledem ke *scute2*.“ (Agol 1931, s. 264–265)<sup>78</sup>

Subgenová hypotéza také pozměňuje pojetí mnohočetných alel.

<sup>78</sup> Předpokládaný vztah *spoon*, *scute1* a *scute2* zachycuje obrázek 9.

*„Considering new data, the old view, that all allelomorphs of one type, obtained as a result of mutation, correspond only to one normal allelomorph, seems purely formal. In reality, as follows from the phenomenon of partial allelomorphism described above, each definite transgene corresponds to its specific normal gene. In other words, not one normal gene corresponds to all allelomorphs of a given type, but as many normal genes as there are allelomorphs. Normal allelomorphs differ from each other in the same degree as do their corresponding transgenes. The normal allelomorph of scute4 is not the same as that of scute3, scute2, or scute1. The latter all represent different regions in the normal chromosome.“*

„Vezmeme-li v úvahu nová data, je starý pohled, podle něhož alelomorfy jednoho typu (získané mutacemi) odpovídají jedině normální alelomorfě, čistě formální. Z částečného alelomorfismu popsaného výše ve skutečnosti plyne, že každý určitý transgen odpovídá svému specifickému normálnímu genu. Jinými slovy: jeden normální gen neodpovídá všem alelomorfům daného typu, těm odpovídá právě tolik normálních genů, kolik je alelomorf. Normální alelomorfy se od sebe liší stejnou měrou jako jim odpovídající transgeny. Normální alelomorfa *scute4* není stejná jako normální alelomorfa *scute3*, *scute2* nebo *scute1*. Posledně jmenované představují jiné oblasti v normálním chromozomu.“ (Agol 1931, s. 265)

Další významný závěr, který Agol vyvozuje ze schodišťového uspořádání alelomorf, se dotýká *crossing-overu*. Je-li celý chromozom kontinuální v tom smyslu, že jeden gen přechází přímo do jiného genu, pak může ke *crossing-overu* dojít jen uvnitř určitého genu a nikoliv mezi geny, uvážíme-li, že tato hypotéza vylučuje existenci jakýchkoliv prostor mezi geny.

Shrňme-li Agolem navržené změny v konceptu genu a alelomorfy, které si výše popsaná hypotéza vynucuje, vyvstane nám následující obraz. Geny jsou složité (komplexní) struktury rozdělitelné na různě vymezené úseky, jejichž vzájemná provázanost a propojenost je neopominutelná. Dva sousedící geny se částečně překrývají, tedy když geny vůči sobě mění pozici, mění současně s tím i svoji strukturu. Dostáváme se tedy do situace, kdy obměna genu a obměna vzájemné pozice genů je jedno a totéž, struktura a vazba genů se ukazují být neoddělitelné.

Agol předpokládá, že v chromozomu neexistuje místo, které by nepatřilo do žádného genu, a že geny plynule přecházejí jeden v druhý. Z toho plyne, že nemůže nastat takový *crossing-over*, který by se nedotkl nějakého genu. Možnost *crossing-overu* mezi subgeny svědčí o jejich sériovém uspořádání, můžeme tedy říci, že představa vzájemného pronikání genů prostřednictvím jejich subgenů vyzdvihla důležitost uspořádání. Jak naznačí kapitola o pseudoalelismu, považoval si R. Goldschmidt subgenové hypotézy mj. kvůli docenění tohoto uspořádání.

Subgenová hypotéza mění pohled na alelomorfy. Alelomorfy nejsou pochopené jako obměny téhož genu, poněvadž jsou tvořené z částí, které mohou patřit do různých alelomorf a které si ponechávají svoji funkčnost. Nejedná se tedy o různé formy téhož genu. Agol odstraňuje tradiční korespondenci „jeden gen – mnoho alelomorf“ a uchyluje se k pojmu



částečná alelomorfa.

Představou kontinuity genů se Agolova hypotéza vymyká tehdy ještě převažujícímu pojetí genu, podle kterého byl gen považovaný za nedělitelnou jednotku rekombinace, mutace i funkce. Mohl mít různé alelomorfy, které byly chápány jako celý gen, nikoliv jen jako jeho části. Subgenová hypotéza představuje první výraznější pokus tuto představu změnit. Nový pohled se do značné míry odráží i ve slově transgen, které evokuje cosi táhnoucí se přes geny. (Agol ho používá jako synonymum pro částečnou alelomorfu tvořenou několika subgeny.)

### 5.3. Pohnutky vedoucí ke studiu lokusu *scute*

Do výzkumu lokusu *scute* se kolektiv Serebrovského nepouštěl se záměrem navrhnout jiné pojetí genu. Cílem genetické analýzy této oblasti bylo prozkoumat vztah mezi chromozomální teorií a hypotézou přítomnost – nepřítomnost. Z různých skutečností, které hypotézu přítomnost – nepřítomnost nepodporovaly, či ji vyloženě podkopávaly, byl zásadní právě objev mnohočetného alelismu. Jednou z příčin jejich zaujetí lokusem *scute* byl údajně názor, že na něm lze demonstrovat udržitelnost obou teorií, a to v případě zavrnutí nedělitelnosti genu.<sup>79</sup> (Campos-Ortega 1998, s. 291) Uvážíme-li, že jsou podle Dubininovy hypotézy geny složené z různých subgenů, přičemž každý ze subgenů odpovídá za část funkce, která je pro daný gen specifická, dá se existence různých alelomorf (a obzvlášť dobře existence alelomorf s různou expresivitou) snadno vysvětlit: V daném genu zkrátka došlo postupně k několika mutacím, které ovlivnily různé subgeny téže skupiny.

### 5.4. Teorie blízké subgenové hypotéze

Subgenová hypotéza ruských genetiků nepředstavovala zcela ojedinělý pokus uvažovat o dělitelném genu. Jedna z poměrně známých teorií spekulující o členění genu na menší jednotky vzešla z USA. Bývá označována jako „*side-chain theory*“ a je spjata se jménem D. H. Thompsona. Stejně jako skupina kolem Serebrovského i Thompson byl veden snahou vysvětlit mnohočetný alelomorfismus. (Stroer 1936)

V roce 1923 působil Thompson jako asistent profesora C. Zeleného a věnoval se práci s mutanty octomilky typu *bar*.<sup>80</sup> Tehdy začal uvažovat o možnosti, že u těchto mutantů došlo

---

<sup>79</sup> V dějinách vědy je možné najít mnoho příkladů, kdy se vědci více či méně nepokrytě snaží obhajovat svou „oblíbenou“ teorii. Prakticky jakoukoliv hypotézu je možné udržet, přidáme-li k ní potřebné předpoklady a připojíme-li dodatečné hypotézy.

<sup>80</sup> Mutanti *bar* jsou octomilky s anomálním počtem ommatidií v oku. Všichni jsou potomky jediného samce typu

ke ztrátě některých diskrétních částic z genu nebo naopak k jejich připojení. Prvně tuto představu prezentoval v roce 1925.

*„The gene consists of a main particle, or base, fixed in the chromosome, with varying numbers of other particles, or modifiers, attached to it. The modifiers of any gene are usually attached to the base in a side-chain arrangement. Mutation consists of the gain or loss of modifiers or chains of modifiers.“*

„Gen stává z hlavní částice neboli báze, která je připevněná v chromozomu a na kterou je napojen různý počet dalších částic, modifikátorů. Tyto modifikátory genu jsou k bázi obvykle přichyceny řetězovitým způsobem. Mutace spočívá v získání nebo ztrátě modifikátorů či řetězce modifikátorů.“ (Thompson 1925, s. 91)

K této teorii se o několik let později vrací, nahrazuje původní termíny a doplňuje ji o zjištění, která nashromáždili především C. Zeleny a A. H. Sturtevant.

*„This conception pictures the gene as consisting of a main particle firmly anchored in the chromosome with varying numbers of one or more kinds of other particles attached. The main particle is called the protosome and the attached particles the episomes. ... Gene mutation is due most frequently to the loss of one or more episomes from the protosome and less frequently to the addition of episomes. When two or more episomes of the same kind are present in a gene, they are attached one to the other so as to form a side-chain. Different kinds of episomes do not enter into the same side-chain, but each kind has its own attachment with the protosome. Varying numbers of the same kind of episome produce ‚quantitative‘ series of multiple allelomorphs. Epistatic series and allelomorphs which are ‚qualitatively‘ different involve variations in the numbers of two or more kinds of episomes. Shifting of the position of an episome or chain of episomes on the protosome may account for changes in the rate of mutation or for different linkage relations. Episomes may be transferred occasionally, not only from one protosome to its homologue in the other chromosome, but also from one locus to another.“*

„Podle této představy jsou geny tvořené z hlavní částice pevně zakotvené v chromozomu, která má rozmanitý počet jednoho či vícera typů připojených částic. Hlavní částice se označuje protozom a připojené částice epizomy. ... Genová mutace je nejčastěji způsobena ztrátou jednoho nebo několika epizomů z protozomu, méně často k ní dojde přidáním epizomů. Když jsou v jednom genu přítomny dva epizomy téhož typu, jsou k sobě připojeny tak, že vytvářejí postranní řetězec. Různé typy epizomů se nevyskytují ve stejném postranním řetězci, každý typ je připojen k protozomu zvlášť. Různé počty epizomů stejného typu vytvářejí ‚kvantitativní série‘ mnohočetných alelomorf. Epistatické řady a alelomorfy, které se navzájem ‚kvantitativně‘ liší, jsou podmíněny různými rozdíly v počtu dvou nebo více typů epizomů. Když jeden epizom nebo řetězec epizomů změní svoji pozici na protozomu, může dojít ke změně v míře mutací nebo ke změně genových vazeb. Epizomy mohou být příležitostně přenášeny nejen z jednoho protozomu ke svému homologu na druhém chromozomu, ale také z jednoho lokusu na jiný.“ (Thompson 1931, s. 268)

Thompson se výslovně hlásí k tradiční představě chromozomu jako řetězce korálků jen s tím rozdílem, že téměř každý korálek nese plno postranních řetězců epizomů<sup>81</sup>, čímž se

---

bar, kterého objevil v roce 1913 S. C. Tice. (Tice, S. C. A new sex-linked character in *Drosophila*. *Biol. Bull.*, 1914, 26: 221–230.)

<sup>81</sup> Slovo epizom označuje v této teorii oddělitelný přívažek hlavní genové částice. Později se tento výraz užívá pro označení genetického materiálu, který existuje nezávisle na chromozomu, byť je schopen se do něj v některých případech začlenit. Epizomy v tomto smyslu jsou například plazmidy nebo viry.

zřejmě toto pojetí genu snaží zachránit.

Velmi zajímavé jsou Thompsonovy spekulace o množení genů, na které ve svojí teorii naráží. Můžeme v nich totiž spatřovat předobraz toho, čemu se později říká komplementarita.<sup>82</sup>

*„Since the data assembled here indicate that the gene is a three-dimensionally differentiated entity, there are certain corollaries which cannot be altogether neglected. For example, the ordinary assumption that genes ‚split‘ during cell division seems rather too naive. General considerations of growth and symmetry phenomena among living things make it more rational to regard a gene, in its role of autocatalyst, as ‚regenerating‘ a homologue by its side. In the same way this ‚regenerated‘ gene may also be expected to be a mirror image of its progenitor.“*

„Jelikož uvedená data ukazují, že je gen trojrozměrně diferencovaná entita, vyplývají z toho jisté důsledky, které nelze pominout. Například obvyklý předpoklad, že se geny během buněčného dělení ‚štěpí‘, se zdá příliš naivní. Obecné úvahy o růstu a symetrii v živém ukazují, že je rozumnější pohlížet na gen – jakožto autokatalyzátor – jako na něco, co si vedle sebe ‚obnovuje‘ svůj homolog. Stejně tak se dá tento ‚regenerovaný‘ gen pokládat za zrcadlový obraz svého původce.“ (Thompson 1931, s. 286 – 287)

Thompson poznamenává, že se jím navržená struktura genu podobá v některých ohledech struktuře enzymu podle R. Willstättera.<sup>83</sup> Ten považuje enzym za koloidní nosič s chemicky aktivní skupinou, která je přenositelná z jednoho nosiče na jiný. Thompson soudí, že geny patrně působí prostřednictvím enzymů, a proto u nich můžeme očekávat podobnou strukturu.

Z dalších teorií, které více či méně uvažují o složení genu z různých oddělitelných částí, můžeme zmínit například C. Corrense<sup>84</sup>. Correns považuje gen za velkou molekulu s různým počtem připojených chemických radikálů (stejněho typu), které podmiňují různě intenzivní zelenou, resp. bílou barvu v listech. Tento pohled mu pomáhá vysvětlit panašování některých rostlin. Za uvedení stojí i výzkum mnohočetných alelomorf ovlivňujících barvu perikarpu

---

V době, kdy se modelovým organismem stal bakteriofág, se uvažovalo, že se fág k nukleoidu bakterie pouze připojuje, nikoliv vmezeňuje. Je možné, že představa jakéhosi větvení bakteriálního chromozomu napadeného virem má svůj prapůvod právě zde, v epizomech, které sice byly pouhé „přílepy“, přitom ale zásadně měnily fungování genů.

<sup>82</sup> Úvahám o komplementaritě se v průběhu 40. let věnoval E. Chargaff. (Chargaff, E., Vischer, E., Doniger, R., Green, C., Misani, F. The composition of the desoxypentose nucleic acids of thymus and spleen. *J. Biol. Chem.*, 1949, 177: 405–416. Vischer, E., Chargaff, E. The composition of the pentose nucleic acids of yeast and pancreas. *J. Biol. Chem.*, 1948, 176: 715–734.)

<sup>83</sup> Willstätter, R. Chemical progress. *Annual Reports on the Progress of Chemistry*, 1926, 23: 232–234.

<sup>84</sup> Correns, C. Vererbungsversuche mit buntblattringen Sippen. I. *Capsella bursa-pastoris albovariabilis* und *chlorina*. *Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften zu Berlin*, 1919, 33: 585–610.

W. H. Eystera.<sup>85</sup> Eyster při něm dospěl k názoru, že jsou geny tvořeny různým počtem genových elementů, které buď přispívají k tvorbě příslušného pigmentu, či nikoliv.

Z historického hlediska můžeme subgenovou hypotézu chápat jako jisté předjímání výzkumů detailní genové struktury. Mezi slavná „dělení“ celistvých lokusů ve 40. letech 20. století patří vyvolání *crossing-overu* mezi domnělými alelomorfami *lozenge* u octomilky a dále zkoumání pozičního efektu spojeného s *crossing-overem* mezi *star* a *asteroid*.<sup>86</sup> Strukturu genu věnoval v 50. letech hodně pozornosti S. Benzer.<sup>87</sup> Rozčlenění chromozomu do genů se v polovině 20. století dotýká i studium pseudoalelismu (komplexních lokusů). Toto téma rozebírá samostatná kapitola, zde je třeba jen podotknout, že subgenová hypotéza vede k dosti jinému pohledu než výzkum pseudoalel. (Většinu genetiků přivedly pseudoalely k přesvědčení, že existují úseky, které nepatří do žádného genu. Naopak subgenová teorie existenci negenových úseků nezná. Podle ní mohou jednotlivé segmenty chromozomu patřit do několika genů, a celý chromozom tak „rozsekává“ do překrývajících se genů.)

## 5.5. Kritika subgenové hypotézy

Hypotéza, kterou Serebrovsky (1930), Dubinin (1929) a Agol (1930) navrhli pro výklad vztahů mezi mutacemi v lokusu *scute*, vyvolala záhy odezvu, která byla téměř ve všech případech negativní. Problematická místa hypotézy předvedli její kritikové tak přesvědčivě, že se již v roce 1932 samotný Dubinin od své interpretace částečně odvrací.

### 5.5.1. Reakce A. H. Sturtevanta a J. Schultze

Jednou z kritizovaných představ bylo Agolovo vysvětlení chování *scute* v případech, kdy dojde na příslušném chromozomu ke ztrátám (delecím) podmíněným rentgenovým zářením. Agol v souladu se subgenovou hypotézou předpokládal, že může dojít ke zlomům i v rámci genu, což znamená, že v genu zůstane jen část subgenů, které budou dále normálně fungovat. A. H. Sturtevant a J. Schulz (1931) však namítají, že se tento jev dá vykládat i jinak: Při delecí v okamžiku zlomu chromozomu může dojít ke vzniku nové alelomorfy, což by bylo docela dobře možné, uvažíme-li, že *scute* mutuje poměrně snadno. Oba kritikové

---

<sup>85</sup> Eyster, W. H. A genetic analysis of variegation. *Genetics*, 1924, 9: 372–404.

<sup>86</sup> Oliver, C. P. A Reversion to Wild-Type Associated with Crossing-Over in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 1940, 26: 452–454. Lewis, E. B. The Relation of Repeats to Position Effect in *Drosophila Melanogaster*. *Genetics*, 1945, 30: 137–166.

<sup>87</sup> Benzer, S. Fine Structure of a Genetic Region in Bacteriophage. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 1955, 41 (6): 344–354.

dokládají svůj pohled na daný problém pozorováním, z něhož plyne, že je projev *scute* spojený se třemi úseky chromozomu X. Jde o prostřední úsek, který podmiňuje tíhnutí *scute* k recesivitě, okrajový úsek, který *scute* posiluje, a normální alelomorfu.

*„This is in complete harmony with the view that the dominance of any one gene is a function of the system as a whole. If this is granted it becomes difficult to accept the proof of the sub-gene hypothesis offered by Agol.“*

„To je v naprostém souladu s názorem, že dominance jakéhokoliv genu je funkcí systému jako celku. Je-li tomu tak, je obtížné přijmout Agolovy důkazy subgenové hypotézy.“ (Sturtevant, Schultz 1931, s. 267)

Sturtevant a Schultz se snaží ukázat, že každá alelforma *scute* ovlivňuje tvorbu štětín i mimo okrsek, v němž se její aktivita za normálních okolností projevuje, přičemž tyto štětiny jsou rozetě po celém těle octomilky. Oba proto docházejí k závěru, že je třeba opustit „extrémně preformistickou hypotézu subgenů.“ (Sturtevant, Schultz 1931, s. 269) Zjištění, že každý subgen *scute* ovlivňuje mnoho různě rozmístěných štětín, totiž podkopává samotný základ této hypotézy.

Přes svůj nesouhlas neupírají oponenti subgenové hypotézy její přínos. Ten však nespátřují v jejích teoretických závěrech, nýbrž v upozornění na zvláštní procesy, k nimž na *scute* dochází.

*„The remarkable series of facts described by the Russian investigators remains. If the bristles are plotted on a picture of the fly in the order indicated above, the impression is strong that there is a real pattern present, with a single center in the median line near the level of the posterior dorso-central. Following the suggestion of Plunkett (1926), the pattern may be thought of as resulting from the diffusion of some substance from this center, not with equal speed in all directions, but more rapidly anteriorly, with occasional lateral outpushings.“*

„Ruští badatelé po sobě zanechali řadu pozoruhodných faktů. Kdybychom vynesli štětiny do obrázku mouchy v pořadí, jaké bylo naznačeno výše, vyvolalo by to dojem, že je zde skutečně jakési rozložení, jehož centrum leží ve středové linii poblíž zadní části dorzocentrálního oddílu. Podle návrhu Plunketta z roku 1926 by mohlo být toto rozložení interpretováno jako výsledek difuze nějaké látky šířící se z tohoto centra nestejnou rychlostí všemi směry – rychleji směrem vpřed, s občasným průnikem směrem do stran.“ (Sturtevant, Schultz 1931, s. 269)

Oba genetické považují za vhodnější vysvětlovat rozložení štětín na octomilce poukázáním na možný ontogenetický proces než vytvořením hypotézy o struktuře genu.

### 5.5.2. Reakce H. J. Mullera

Velkou odezvu vyvolalo uveřejnění subgenové hypotézy u H. J. Mullera, který se v polovině 30. let věnoval v SSSR studiu uměle vyvolaných mutací a změn projevu zmutovaných genů. Muller si všímá případů, kdy se mutace dotkly aktivity daného genu tak silně, že ji zcela změnily, a v této souvislosti hodnotí přínos ruských genetiků. Cení si hlavně

dokumentace tzv. hypomorfních změn<sup>88</sup>, které na lokusu *scute* zaznamenali.

*„One of their most important contributions lies in showing the richness of the different patterns of change possible in a given gene, since thus far very few of the numerous allelomorphs are indistinguishable from one another. That the tendency to certain kinds of groupings of effects on the different bristles is partly an expression of certain real features of gene structure, and will help us to understand the arrangement of gene parts, is also a reasonable conclusion.“*

„Jeden z jejich nejvýznamnějších příspěvků spočívá v tom, že předvedli bohatství různých vzorců změn, které mohou nastat v daném genu, jelikož bylo dosud jen několik málo alelomorf takových, že byly od sebe k nerozeznání. Také závěr, že sklon k jistému soustředování vlivu na různé štětiny je částečně projevem skutečných rysů genové struktury a že nám pomůže porozumět uspořádání genových částí, je rozumný.“ (Muller 1932, s. 249–250)

Zdrženlivě se Muller vyjadřuje o alternativním vysvětlení, které navrhl C. Plunkett.<sup>89</sup>

*„Attempts to explain the matter in a simple quantitative way, as in Goldschmidt's criticisms, or by means of developmental relations, as in the Plunkett-Sturtevant-Schultz hypothesis of diffusion of influences from a center, fall in the face of the facts. We do not have time to mention the various logical difficulties which the latter hypothesis encounters in its actual working out. Suffice it here to say that a study of numerous gynandromorphs involving various scute allelomorphs has been carried out in our laboratory, chiefly by Patterson, and that the results show clearly that the development of bristles, in so far as it is under the influence of the scute gene, is not governed by one or a few centres, but is in its major features autonomous at the site of each bristle. Later work throws grave doubt on the possibility of grouping all the effects*

„Pokusy vysvětlit tuto záležitost čistě kvantitativně, jak to předvedl ve své kritice Goldschmidt, nebo pomocí vývojových vztahů, jak se snaží Plunkett-Sturtevant-Schultzova hypotéza difuze vlivů z jednoho centra, selhávají tváří v tvář faktům. Není zde dost místa, abychom uváděli různé logické obtíže, které s sebou druhá zmíněná hypotéza nese. Postačí jen říci, že se jistý Patterson v naší laboratoři věnoval studiu mnoha gynandromorf s různými alelomorfami *scute* a že výsledek jasně ukazuje, že vývoj štětín (alespoň ten ovlivňovaný genem *scute*) není řízen z jednoho nebo několika málo center, ale že je v hrubých rysech autonomní v místě každé štětiny. Pozdější práce vnášejí zásadní pochybnosti do možného uspořádání těchto účinků do jedné linie (což ji staví jak proti subgenové hypotéze, tak proti teoriím Goldschmidta, Sturtevant a atd.). ... Nicméně lokus

---

<sup>88</sup> Slovem hypomorfni označuje Muller mutanty nesoucí alelomorfu, která sice směřuje ke stejnému výslednému projevu jako alelomorfa normální, ale jejíž projev není tak silný. Většina tehdy známých mutací byla hypomorfni, a právě tohoto jevu si všímali zbývající zastánci hypotézy přítomnost – nepřítomnost, kterým sloužil jako doklad čistě kvantitativní povahy mutací. Muller s nimi nesouhlasí a říká, že menší působení hypomorfni alelomorfy ve srovnání s alelomorfou normální nemusí nutně znamenat skutečnou ztrátu genetického materiálu. Navíc je myslitelné, že je příslušná mutantní alela hypomorfni s ohledem na jednu funkci onoho genu, ale že je normální vzhledem k jiné aktivitě téhož genu. (Muller 1932, s. 236)

<sup>89</sup> Plunkett, C. The Interaction of Genetic and Environmental Factors in Development. *Jour. Exp. Zool.*, 1926, 46 (2): 181–244.

Plunkett se společně s A. H. Sturtevantem a J. Schultzem zabýval štětinami octomilky při výzkumu asymetričnosti živočichů. Rozdíl mezi levou a pravou částí těla vysvětlovali nestandardním vývojem způsobeným například eliminací chromozomu X v průběhu rýhování. (Wald 1936, s. 267) Někteří genetikové jejich vysvětlení zpochybňovali a asymetričnost připisovali téměř nepostřehnutelným gradientům v teplotě, vlhkosti a jiných faktorech. (Grüneberg 1935, s. 336–337)

*into one exact line (this is equally against both the unmodified sub-gene hypothesis and the theories of Goldschmidt, Sturtevant, et cetera) ... This still leaves the locus of scute the most suitable yet found for the study of multiple allelomorphism and gene structure, and it leaves the sub-gene hypothesis, or some modification of it, as a possible interpretation, although the way is not as clear and easy as before.*“

*scute* je dosud nejvhodnějším lokusem pro výzkum mnohočetného alelomorfismu a genové struktury. Subgenová hypotéza nebo nějaká její obměna představuje i nadále možnou interpretaci, třebaže věci nejsou tak jasné a jednoduché, jak se předtím zdály.“ (Muller 1932, s. 249–250)

Přestože neměla subgenová hypotéza dlouhého trvání (její vznik a následné opuštění je v zásadě záležitostí první poloviny 30. let), její význam v dějinách genetiky není zanedbatelný. Subgenová hypotéza totiž přitáhla pozornost k výzkumu lokusu *scute*, což se ukázalo být velice přínosné. Zjištění, na která poukazovala, zakomponoval do vlastních teorií H. J. Muller a zohlednil je i ve svých názorech na povahu genu. (Jeho pojetí genu blíže ukáže následující kapitola.) Subgenová hypotéza také představovala pokus vidět gen jinak, než bylo v této době zvykem. Zpochybnila nedělitelnost genu, která se zdála být téměř samozřejmá. Představa prolínání jednotlivých genů naznačila jejich možnou kontinuitu. V tomto smyslu můžeme v subgenové hypotéze vidět jakýsi krok od genu – korálku směrem ke genu pochopenému jako text.

## 6. Význam mutací pro rozumění genu

Pro genetiky je samozřejmostí, že geny a jejich působení můžeme sledovat pouze nepřímo, a to zachycením jejich změn, které vyvolají změnu ve fenotypu. Pouze zmutované geny jsou přístupné studiu, které je však komplikováno skutečností, že fenotyp je ovlivňován kromě genů i prostředím. Vlastnosti genů byly v první polovině 20. století vyvozovány výhradně z výsledků jejich působení. (Glass 1957, s. 683) Působení určitého genu se sledovalo tak, že se porovnávali jedinci, kteří byli v genotypu téměř shodní, resp. kteří se lišili právě v onom uvažovaném genu. Je zřejmé, že poznání vlastností genu je závislé na úrovni výzkumu mutací.

Nemožnost zkoumat gen přímo a obtíže s tím související mají pochopitelně svoji obdobu i v jiných oborech, kde se vlastnosti hypotetických částic vyvozují z jejich účinků. Jak poznamenává J. L. Stadler:

*„In such studies, the investigator proceeds by constructing the simplest model that will fit the known facts and then attempting to apply every significant experimental test of the predictions that may be made from the model. By a series of successive approximations, the model finally evolves to a form that seems to provide the most plausible mechanism for the behavior observed. The study of the physical nature of the gene from purely genetic evidence is closely comparable to this. ... The cytogenetic analysis of individual mutations provides a wholesome check on hypotheses derived from the statistics of mutation frequencies.“*

„V takových případech výzkumník vytváří nejjednodušší model vyhovující známým faktům a snaží se v rozličných experimentech testovat předpovědi plynoucí z tohoto modelu. Následnými aproximacemi se model vyvíjí do podoby, která poskytuje nejpřijatelnější mechanismus pozorovaného chování. Studium fyzikální povahy genu na základě ryze genetických důkazů má právě tento charakter. ... Blahodárnou kontrolu hypotéz odvozených ze statistik frekvencí mutací poskytují cytogenetická pozorování.“ (Stadler 1954, s. 811)

### 6.1. Původní význam slova mutace

Slovo mutace používají přírodovědci poměrně dlouho. Ve srovnání s pojmem gen, který byl do vědy zaveden až s rozvojem genetiky, je tento termín mnohem starší. V průběhu 19. století se setkáváme se slovem mutace především v paleontologii, jmenovitě v pracích W. B. Scotta, W. H. Waagena nebo M. Neumayra<sup>90</sup>. V paleontologii 19. věku znamenala mutace:

*„a change during phylogenetic*

*„změnu během fylogenetického vývoje, která*

---

<sup>90</sup> Neumayr, M. Beiträge zur Kenntniss fossiler Binnenfaunen. *Jahrbuch der kaiserlichen und königlichen geologischen Reichsanstalt*, Wien, 1869, 19: 355–382.



*development, which is characterized by slow, small, almost insensible steps.*“

se vyznačuje pomalými, malými, téměř neznatelnými kroky.“ (Ortmann 1906, s. 747)

Do moderní genetiky zavedl slovo mutace Hugo de Vries, který v letech 1901 až 1903 vydal svoje zásadní dílo *Die Mutationstheorie*. Termín **mutace** získal v jeho podání opačný význam, než jaký měl v původním kontextu, což v dějinách vědy není až tak výjimečný jev. (Obdobnou zásadní proměnu prodělalo například slovo evoluce.) Mutační teorie vycházela z de Vriesovy intracelulární pangeneze. Vzhledem k tomu, že tyto teorie byly blíže popsány v diplomové práci autorky, budou zde uvedeny jen myšlenky s bezprostředním významem pro zaměření této kapitoly.

Poblíž města Hilversum v Holandsku sledoval de Vries několik let pole zarůstající jedinci druhu *Oenothera lamarckiana*. Rostliny se rychle množily a vykazovaly velkou variabilitu. V roce 1887 se v populaci objevily dvě jasně vymezené formy, které de Vries označil za tzv. elementární druhy: *Oe. brevistylis* a *Oe. laevifolia*. Ze semen *Oe. laevifolia* se mu podařilo vypěstovat tři skupiny, o nichž hovořil jako o rodinách (*families*). Z každé z těchto tří rodin vzešel podle de Vriese nový druh. (de Vries 1928, s. 105–106)

Z těchto pozorování vyvozuje, že druhy povstaly jeden z druhého nespojitým procesem. Nový druh, který vzniká z rodičovského druhu bez jakýchkoli přechodných forem, prý odděluje od původní formy existence nové jednotky (nový pangen). Podle teorie mutace vznik druhu nijak nesouvisí s individuální variabilitou, nýbrž s náhlou malou změnou, kterou přirovnává k chemické substituci. (de Vries, 1909, I. díl, s. 3–4) Pro tuto „druhy tvořící“ variabilitu zavádí de Vries označení mutabilita. Jako nejlepší příklady mutability uvádí spontánní změny (v Darwinově terminologii *sports* či *single variations*), kterými vznikají nové variety. Dílčí kroky, na které můžeme proces odlišení rozložit, navrhuje označovat mutace. Tzv. progresivní mutace s sebou přináší novou vlastnost, která nemusí být ihned viditelná, projevit se může až později. Jde tedy o dvojitý proces – o vytvoření nového faktoru (tzv. premutaci) a o aktivaci tohoto faktoru (mutaci *sensu stricto*), přičemž oba procesy nemusí nutně nastat najednou. Premutace je tedy hypotetická, zatímco mutace má empirickou povahu. (de Vries, 1909, II. díl, s. 570–571)

Jednou z předpokládaných příčin mutací může být podle de Vriese rychlé pomnožení. Domnívá se, že mutace mohou být změny ve svém rozsahu menší než běžné individuální odchylky a že k nim dochází v pohlavních buňkách nejspíš někdy před jejich splnutím. Od mutací odlišuje de Vries tzv. monstrozity, které na rozdíl od mutací neovlivňují všechny homologní orgány, ale jen některé z nich. (de Vries, 1909, I. díl, s. 472)

De Vries rozlišuje několik typů mutací. Za to, jak vypadá genealogický strom organismů, mohou tzv. progresivní mutace. Jejich podstatou je vytvoření nového faktoru (pangenu). Retrogresivní jsou takové mutace, kdy se určitý faktor inaktivuje. (Faktor tedy zůstává přítomen v latentní podobě, a právě tato mutace odděluje obvykle jednotlivé druhy v rámci příbuzné skupiny druhů.) Úplnou ztrátu pangenu nazývá de Vries degresivní mutace. Zatímco formy vzniklé retrogresivní a degresivní mutací respektují Mendelovy zákony, formy vzniklé progresivní mutací se chovají unisexuálně (tj. při křížení rodičovského jedince, který nese ve své výbavě onu novinku, s jedincem, který žádný faktor navíc nemá, vznikají stálí hybridy.). Plodnost jedinců vzniklých křížením se odvíjí nejspíš od toho, kolika pangeny se odlišují. (de Vries, 1909, II. díl, s. 648)

## 6.2. Spory o význam mutační teorie v klasické genetice

De Vriesova teorie přitáhla velkou pozornost odborníků zabývajících se původem druhů. Biologové se rozcházeli především v názoru, zda má mutační teorie obecnou platnost. Hodně diskutován byl i de Vriesův postoj k druhu. De Vries sám zdůrazňoval, že mu nejde o překonání Darwinovy teorie, a soudil, že se jeho závěry nevyklučují s Darwinovou představou o formování organismů přirozeným výběrem. (de Vries 1909, s. 74)<sup>91</sup>

Nicméně postoj k mutační teorii rozdělil biology do dvou táborů – na mutacionisty a na selekcionisty. Zatímco první tábor se přidržoval de Vriesových názorů a spatřoval v mutacích hlavní podnět vývoje druhů a zdroj jejich přetváření, druhý vyzdvihoval význam selekce pro vznik druhu a mutacím byl ochoten připsat jen podružnou roli.

---

<sup>91</sup> Mnozí de Vriesovi současníci (obzvlášť embryologové) si teorie cenili kvůli jejímu obecnějšímu vyznění: Ztělesňovala pro ně pokus přenést problematiku evoluce do studia dědičnosti. Zdůraznila totiž význam změn postihujících zárodečné buňky, evoluci organismů pochopila jako evoluci jejich zárodečných buněk. (Conklin 1905, s. 525) Kladně hodnocený byl i fakt, že mutační teorie vedla k rozpoznání základních vlastností, které se projevují v jednotlivých částech dospělce (například ne-přítomnosti chlupů, barvy apod.). V tomto ohledu přispěla k pohledu na organismus jako na *Eigenschaftsaggregat*, což bylo naznačeno v úvodu. De Vriesova mutační teorie také zaujala myšlenkou, že jsou genetické faktory diskontinuální, ačkoliv vlastnosti, které těmto faktorům odpovídají, diskontinuální být nemusí. (Tuto představu vyzdvihoval například T. H. Morgan.) Mutační teorii kritizovali především systematikové a paleontologové, kteří v mutacích viděli především ztrátu genetického materiálu, kterou těžko pokládat za základ evoluce druhu. De Vriesovi vytýkali, že se nechal unést a ojedinělý úkaz vydával za obecně platný princip vzniku druhů. (Merriam 1906, Gates 1917) Kritiku si vysloužilo přehlížení významu selekce a segregace pro vznik druhu i de Vriesovo pojetí druhu samotné. (Ortmann 1906, Casey 1906)

Diskuse o vztahu mutací a vymezení druhu si uchovala svoji naléhavost až do 20. let 20. století. Vyjadřuje se k ní i jedna z nejvlivnějších postav klasické genetiky, T. H. Morgan. Morgan považuje za zajímavou de Vriesovu myšlenku, že povahu druhu určuje soubor genů a že se od sebe jednotlivé druhy mohou odlišovat jen několika málo geny. Vyvozuje z toho, že kdyby měly příbuzné druhy společné velké množství genů, pak by se dal očekávat poměrně častý vznik stejných mutací. (Například by se mohlo hovořit o mutaci *albinos*, ať už by se objevila u kteréhokoli druhu.) (Morgan červenec 1918, s. 48) Mutaci chápe Morgan takto:

*„We mean by the mutation that a new type has suddenly arisen in the sense that some change has taken place in the germ plasm – a new gene has been formed.“*

„Mutací rozumíme to, že náhle vznikne nový typ, a to tak, že nastala změna v zárodečné plazmě, utvořil se nový gen.“ (Morgan květen 1918, s. 391)

Morgan nepovažuje mutaci za ztrátu kousku zárodečné plazmy. (Morgan květen 1918, s. 397) Argumentuje jednak tím, že není legitimní vyvozovat z povahy vlastnosti povahu změny v zárodečné plazmě, která tuto vlastnost vyvolala; jednak uvádí příklady, kdy různé mutace dosáhly stejného účinku (Morgan červenec 1918, s. 48). Upozorňuje také, že dominantní mutantní vlastnosti by vyžadovaly předpokládat existenci inhibujícího genu.<sup>92</sup>

Aby vysvětlil to, že je mnoho mutací recesivních, uvažuje Morgan o nemutovaném genu jako o vysoce komplexní molekule. Dá se podle něj čekat, že rozkladné síly budou pravděpodobnější než síly, které by přispěly k vyšší míře komplexity. Navíc můžeme přepokládat, že ztráta komplexity s sebou nese i to, že je daná vlastnost méně vyvinutá.

Jak ukázaly kapitoly o mendelovské notaci a o pleiotropismu, odmítá Morgan zjednodušenou představu, že je vliv mutace omezený na jedno místo (na určitý orgán). Upozorňuje, že u dobře prozkoumaných mutací obvykle nevidíme jen jednu, nýbrž více změn, které jsou s touto mutací spojené. Morgan varuje před ignorováním různých důsledků téže mutace a snahou vyvozovat povahu genu jen z té jedné změny, která ovlivnila určitý orgán. (Morgan květen 1918, s. 403) (Morganovo pojetí genů blíže zmiňovala druhá kapitola.)

V souvislosti s mutacemi, tj. změnami genu, se do popředí zájmu dostala genová stálost. O tom, že je gen schopný změny, ale zároveň je i konstantní, vypovídá podle genetiků

---

<sup>92</sup> Spojování mutace se ztrátou dědičné jednotky bylo velmi časté, protože mutace se ve srovnání s divokým typem často projevovala jako ztráta nějaké vlastnosti. Jedno z lákadel hypotézy přítomnost – nepřítomnost představuje podle Morgana to, že u ní odpadá problém možné kontaminace faktorů v heterozygotním páru. (Morgan nepovažuje vzájemnou kontaminaci alel za nemožný, jako spíše atypický jev. Kdyby byla kontaminace běžná, zcela by zastřela segregaci podle Mendelových zákonů.)

variabilita jedinců, která kolísá kolem stálé hodnoty. (Malé rozdíly mezi jedinci byly připisovány prostředí.) Ke stálosti genu zaujímá Morgan následující postoj:

*„Whether we think of the gene as a complex molecule or as a quantity of material holding together through cell generations, it seems plausible that its mutations will be conditioned by its nature. If it is a molecule these changes may be strictly limited, numerous though the possible changes may be; but if it is only a definite "quantity" of something, the amount of its increase or decrease might seem less restricted, since any amount of increase or decrease might appear possible.“*

„Ať už považujeme gen za komplexní molekulu nebo za množství materiálu držící pospolu po mnoho buněčných generací, zdá se, že jsou jeho mutace podmíněny jeho povahou. Pokud se jedná o molekulu, jsou její změny jasně omezené, byť jich může být velmi mnoho. Pokud jde však jen o určitou kvantitu čehosi, není jeho nárůst či úbytek omezený, neboť úbytek a přírůstek může být jakýkoliv.“ (Morgan červenec 1918, s. 49)

O stálosti genu můžeme tedy podle Morgana uvažovat dvěma způsoby: Jednak jako o molekule, která je kvantitativně stálá, a jednak můžeme na gen pohlížet jako na jisté množství materiálu, které kolísá kolem průměru. Množství, které má jedinec při svém vzniku k dispozici, může ovlivňovat jeho vlastnosti ve směru plus a minus od onoho výchozí bodu. I kdyby vývoj dvou jedinců začal s různým množstvím tohoto materiálu, říká Morgan, během buněčných dělení se může počáteční rozdíl vyrovnat.

### 6.3. První klasifikace mutací

Vedle role mutací ve speciaci a úvah o stálosti genu se velkým tématem klasické genetiky stala klasifikace mutací. Mendelisté, kteří na mutace hleděli „zvnějšku“, se je pokoušeli všechny vysvětlovat na jednom základě – často jako ztrátu určité kvality. Stále více případů však ukazovalo, že jsou mutace výsledkem různých změn. (Gates 1915, s. 521) Právě první pokusy mutace klasifikovat ukazují docenění jejich různosti.

Například R. R. Gates (1915) rozlišuje změny elementů zárodečné plazmy na ty, které primárně ovlivní morfologické znaky, a na změny v „chemických znacích“. Chemické a morfologické změny mohou prý být děděny každá zcela jinak. (Chemické povahy jsou podle Gatese například barevné odchylky much rodu *Drosophila*. Morfologické mutace nesou podle něj jedinci rodu *Oenothera*, kteří mají nadbytečný patnáctý chromozom.) Zatímco tetraploidní mutanti se objevují poměrně často<sup>93</sup>, mutace způsobené přidáním jediného chromozomu jsou méně běžné. Podle Gatese to svědčí o tom, že mutace vznikají v jakýchsi „slabých místech“ zárodečné plazmy, a právě tato místa určují, kterým směrem se budou mutace v daném rodě

---

<sup>93</sup> V dobové literatuře se můžeme u velmi hojných mutací setkat s termínem „masová mutace“ (*mass mutation*). (Bartlett 1916, s. 524)

ubírat. (Gates 1915, s. 523) (Postřeh, že ne všechny mutace vznikají stejně často, nabyt na důležitosti v pozdější klasické genetice, kdy se badatelé věnovali výzkumu četnosti mutací. Představa, že v zárodečné plazmě existují „slabá místa“, našla později svoji odezvu v pojetí mutací inspirovaném Eyringovou teorií chemické kinetiky. O ní blíže hovoří samostatná kapitola nazvaná „Stabilita genu a pojetí mutací inspirované enzymologií“.)

Skutečnosti, že mutace nepředstavují homogenní skupinu, si povšiml například J. W. Gowen (1928), který rozlišuje mutace genové (kdy je zasažen jeden gen), deficiencie (ztráty celé série genů) a chromozomové mutace (odchylky, při nichž je mutantní projev způsoben nepravidelnostmi v chování chromozomů při dělení jádra nebo v jejich počtu).

A. H. Sturtevant (1925) odlišuje mutace, při nichž se změní počet celých chromozomů, dále mutace představující ztrátu několika sousedních genů (deficiencie či delece) a tzv. bodové čili genové mutace.

R. R. Gates se v pozdější době (1931) kloní k názoru, že jsou mutace jakoukoliv změnou, ke které dojde v zárodečné plazmě, a která je tedy předána jedincům vzniklým ze změněných zárodečných buněk. Znamé mutace rozděluje do čtyř skupin: na trisomie, tetraploidie, triploidie a mutace, u nichž není známa žádná změna v počtu chromozomů a jejichž nositelé jsou diploidní. Do této poslední kategorie započítává i takové mutace, které nejspíš odpovídají prosté změně genu. Oproti Morganově škole se nesnaží zúžit pojem mutace na případy jednoduchých změn, tj. změn samotných genů.<sup>94</sup> Gates podotýká, že je-li určitá změna blíže cytologicky prozkoumána, přesune se z kategorie „skutečná mutace“ jinam. V této třídě nakonec zůstávají pouze mutace, o jejichž podstatě se nic neví.

#### **6.4. Vztah mezi mutací a nerovným *crossing-overem*, kvantitativní povaha mutací**

S pokusy klasifikovat mutace se můžeme setkat od doby, kdy byl u některých mutací rozpoznán odlišný cytologický projev, resp. dopad na chromozomy. Povědomí o různých typech mutací zvýšilo zájem o studium jejich příčin. Za děj zodpovědný za vznik většiny mutací považovali mnozí genetici **nerovný *crossing-over***. Nápadně tato myšlenka vystupuje

---

<sup>94</sup> Například H. J. Muller píše o nadbytečných chromozomech v rodu *Oenothera* jako o „nepravých mutacích“. Sám rozděluje změny, k nimž došlo při vystavení octomilky rentgenovému záření, do následujících kategorií: 1. translokace, kdy došlo k připojení fragmentu chromozomu k jinému chromozomu, 2. inverze, která mohla pomocí *crossing-overu* způsobit vznik duplikace, 3. delece části chromozomu. (Muller 1930)

například v práci K. Saxe (1931). Sax vychází z výzkumu translokací u rodu *Drosophila*, kde sledoval korelaci četnosti mutací s četností *crossing-overu*.

„If mutations are produced by crossing-over, the most probable agency would be unequal crossing-over. Unequal crossing-over would produce gene duplication and deficiency or the duplication and deficiency of parts of genes. Progressive and regressive mutations should be produced in equal numbers, but progressive mutations are rare. The excess of regressive mutations might be attributed to an optimal development of the species so that an excess of specific gene material results in no further development of the specific character. This theory of mutation can be reconciled with the behavior of multiple allelomorphs. A recessive gene need not mean the absence of specific gene material, but only a deficiency sufficient to inhibit the normal expression of the gene. Large deficiencies would be lethal and in general recessive genes should be deleterious to the organism. Natural selection would tend to eliminate unequal crossing-over and thus decrease the rate of mutation.“

„Způsobuje-li mutace *crossing-over*, je nerovný *crossing-over* tím nejpravděpodobnějším činitelem. Ten by vytvořil genovou duplikaci a deficienci genu nebo duplikaci a deficienci jeho částí. Progresivní a regresivní mutace by měly vznikat ve stejných počtech, progresivní mutace však nejsou časté. Nadbytek regresivních mutací můžeme vysvětlit optimálním vývojem druhu, kdy nadbytek genového materiálu nevede k dalšímu vývoji daného znaku. Tato teorie mutace je v souladu s chováním mnohočetných alelomorf. Recesivní gen nemusí znamenat nepřítomnost určitého genového materiálu, nýbrž jen deficienci, která stačí zabránit normálnímu projevu genu. Velké deficiencie by byly letální a obecně můžeme říci, že recesivní geny by pro organismus měly být škodlivé. Přirozený výběr by vedl k eliminaci nerovného *crossing-overu* a tím ke snížení míry mutací.“ (Sax 1931, s. 602)<sup>95</sup>

Nerovný *crossing-over* zkoumal i A. H. Sturtevant (1925), a to na lokusu *bar*, což byl v této době jediný známý často mutující lokus u octomilky.<sup>96</sup> Na tomto lokusu zaznamenal šestnáct různých změn, které nastávaly ve vajíčkách a při nichž docházelo v lokusu *bar* či blízko něj ke *crossing-overu*. Vysvětluje to předpokladem nerovného *crossing-overu*, při němž jeden dceřiný chromozom získal dva exempláře *bar* lokusu, zatímco druhý žádný.

---

<sup>95</sup> Další možnou příčinu mutací spatřuje Sax v duplikaci nebo ztrátě celých chromozomů, v nepravidelné distribuci chromozomů nebo v jejich dočasné inaktivaci. Experimentálně jeho názory podkládají následující práce: Clausen, R. E. The Inheritance in *Nicotiana Tabacum*. X. Carmine-Coral Variegation. Cytologia, 1930, 1: 358–368.

Stadler, L. J. The Experimental Modification of Heredity in Crop Plants. *Sci. Agr.*, 1931, 11: 557–572.

<sup>96</sup> V roce 1914 našel S. C. Tice jedince octomilky, který měl abnormálně úzké oči. (Divoký typ má obvykle oči kulaté - *round*.) Tento nový typ označený *bar* (resp. ve starší podobě *barred*) závisí na genu vázaném na chromozomu X. *Bar* funguje jako inhibitor tvorby facet, tj. jedinec, který jej nese, má v oku menší počet oček, a je vůči divokému typu dominantní. (Tice, S. C. A new sex-linked character in *Drosophila*. *Biol. Bull.* 1914, 26: 221–230.) C. Zeleny na počátku 20. let zjistil, že existuje i alelomorfa *ultrabar* či *double bar*, která je vůči kulatému oku a také vůči typu *bar* dominantní. Povšiml si také, že *double bar* snadno mutuje v *bar* a *bar* se snadno mění zpět v divoký typ. (Zeleny, C. The Effect of Selection for Eye Facet Number in the White *Bar*-Eye Race of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1922, 7 (1): 1–115.)

Pouze k jedné sledované mutaci došlo v pohlavním traktu samce. Při ní vznikla nová, slaběji se projevující alelomorfa nazvaná *infrabar*. Sturtevant popisuje, že se *bar* a *infrabar* dostaly nerovným *crossing-overem* na stejný chromozom a následně obnovily původní stav. Pro všechny pozorované kombinace členů řady *bar* (*round*, *infrabar*, *bar*, *double-infrabar*, *bar-infrabar*, *double-bar*) počítal Sturtevant facety ve složeném oku. Analýza získaných dat ukázala, že dva geny ležící na stejném chromozomu byly ve svém působení při vývoji oka účinnější než stejné dva geny, které ležely na různých chromozomech. (Sturtevant 1925, s. 145–146)<sup>97</sup>

Popsanou situaci vykládá Sturtevant tak, že *bar*, *double-bar* a *round* představují různá množství téže substance. (*Infrabar* v tomto pohledu neodpovídá kvantitativní změně genu *bar*, *double-infrabar* vzhledem k *infrabar* však ano.) *Bar* a *round* chápe Sturtevant jako zvláštní případ tohoto kvantitativního pohledu, který je v souladu s hypotézou přítomnost – nepřítomnost. Nerovný *crossing-over* je podle něj zodpovědný za vytváření těchto kvantitativních rozdílů.

Objasnit vztah mezi chromozomálním přeuspořádáním a mutací a zavést jednotný výklad všech typů mutací se pokusil A. A. Serebrovsky (1929). Vychází z předpokladu, že se k sobě chromozomy na jistou dobu přikládají a při jejich pozdějším odtržení může dojít k odtržení některé jejich části. Je možné, že na druhém chromozomu může takto utržený kousek ulpět. Serebrovsky soudil, že se pouhý přesun úločku chromozomu, při němž se nic neztratí, nemusí viditelně projevit. Ke změně fenotypu prý dojde jen tehdy, když se připojený fragment a nově sousedící lokusy začnou ovlivňovat. V případě získání fragmentu jde buď o duplikaci, nebo translokaci. V závislosti na velikosti ztraceného fragmentu hovoří Serebrovsky o deficienci, letální mutaci a viditelné („přežitelné“) mutaci. (Serebrovsky 1929)

Serebrovského hypotézy si cenil mj. H. J. Muller. Líbí se mu předpoklad překřížení chromozomů, jejich rozlomení, přeuspořádání a znovusjednocení (tedy *crossing-over*), který však nastává mezi nehomologickými oblastmi.<sup>98</sup> Nicméně v průběhu 30. let se ukazuje, že mutace představují svébytný jev a že je nelze ztotožňovat se zlomem chromozomu. (Muller 1932, s. 223)

Při výzkumu kvantitativní povahy mutací měnil Muller množství genetického materiálu

---

<sup>97</sup> Podle Sturtevanta souvisí vliv relativní pozice genů na jejich působení s difuzí. Víc se ale neodvažuje tuto myšlenku rozvádět. (Sturtevant 1925, s. 138) Obdobná myšlenka se později objevuje v práci E. B. Lewise a G. Pontecorva, kterým se blíže věnuje kapitola o pseudoalelismu.

<sup>98</sup> Výhrady má Muller vůči snaze vysvětlit tímto způsobem všechny mutace. Upozorňuje také, že tato hypotéza nijak nevysvětluje, jak se kus chromozomu vyčlení a vloží do druhého chromozomu.

(odebíral, resp. přidával fragmenty chromozomu) a srovnával fenotypové změny se změnami, které vyvolaly obyčejné (genové) mutace. Pro jedince, kteří nesou alelomorfu pro stejný, jen méně výrazný projev jako normální alelomorfa, zavádí Muller označení hypomorfnní mutanti. Muller konstatuje, že je sice většina popsanych mutací hypomorfnní, ale podotýká, že menší vliv ve srovnání s normální alelomorfou ještě neznamená skutečnou ztrátu materiálu. Je myslitelné, že se mutantní alelomorfa chová hypomorfnně s ohledem na jednu funkci onoho genu, ale normálně vzhledem k jeho jiné aktivitě. (Muller 1932, s. 236) Muller upozorňuje i na mutace, které ani neoslabují funkci oproti normální alelomorfě (hypomorfnní mutace), ani ji nezesilují (hypermorfnní mutace). Tyto mutace, které míří jiným směrem než normální alelomorfa, a představují tak skutečnou změnu, označuje Muller jako antimorfnní. Dále vymezuje ještě jednu skupinu mutací – mutace neomorfnní. V jejich případě se normální alelomorfa ve srovnání s mutovanou jeví jako amorfnní, tj. nijak neovlivňuje vlastnost, kterou se ta neomorfnní projeví. Muller říká, že právě existence neomorfnních mutací varuje před tím, abychom v hypomorfnní či amorfnní alelomorfě viděli pouhou ztrátu materiálu. (Muller 1932, s. 246)

Vztah mezi mutací a zlomem studoval Muller také na lokusu *scute*, na němž byla vypracovaná subgenová hypotéza. (Tuto hypotézu rozebírala pátá kapitola.) U mnoha mutací *scute* docházelo poblíž tohoto lokusu ke zlomu a opětovnému spojení chromozomu. Nebylo přitom jasné, zda jde o skutečnou genovou mutaci, která je od zlomu jasně oddělitelná, byť k ní došlo v jeho blízkosti, nebo zda se jedná o poziční efekt vyvolaný přeuspořádáním genů. Muller a Prokofyeva se snažili zjistit, zda existují omezení, kvůli kterým by k rekombinaci mohlo dojít jen v některých místech. Sledovali malou oblast chromozomu, která měla vliv na fenotyp *achaete*, *yellow* a *scute*, a podle fenotypu zjišťovali, zda v ní došlo ke zlomu. Prováděli rekombinace spjaté s různými dvojicemi zlomů a sledovali jedince, jejichž chromozom byl tvořen z části nalevo od jednoho ze zlomů a z části vpravo od druhého ze zlomů. Svoji metodu označují jako **left-right test**:

*„If the first break was to the left of the second one, this recombinational individual would necessarily contain a deficiency for the region lying between the two breaks, and would hence tend to die or be abnormal, while the complementary recombinational individual (containing the portion of the chromosome to the left of the second break, and that to the right of the first break) would carry a duplication of the genetic material lying between the two points of breakage, a circumstance not nearly so upsetting to the soma. If the second break were to the left of*

*„Nastal-li první zlom vlevo od druhého zlomu, bude rekombinantní jedinec postrádat oblast, která leží mezi těmi zlomy, a patrně buď zemře, nebo bude vykazovat abnormální fenotyp. Oproti tomu komplementární rekombinantní jedinec (který nese část chromozomu vlevo od toho druhého zlomu a dále část napravo od prvního zlomu) by vykazoval duplikaci genetického materiálu ležícího mezi těmito dvěma zlomy, což by nemělo na jeho tělo tak negativní dopad. Pokud by byl druhý zlom nalevo od toho prvního, pozorovali bychom opačný fenotypový jev. Pokud by oba dva zlomy byly*



*the first, the reverse phaenotypic relations would be observed. If the two breaks were in identical positions or in positions so nearly identical that a deficiency of the region between them was without detectable effect on the soma, then neither of the complementary classes of recombinations would be lethal or give the appearance of abnormality. “*

v identické či téměř identické pozici, takže by deficiencie v oblasti mezi nimi neměla na tělo žádný rozpoznatelný vliv, pak by žádný z komplementárních případů rekombinace nebyl letální ani by nevykazoval abnormalitu.“ (Muller, Prokofyeva 1935, s. 16–17)

Mullerovi a Prokofyevě se v dotčeném regionu podařilo získat čtyři zlomy, které měly výrazný fenotypový projev a byly od sebe natolik vzdálené, že bylo jisté, že nejde o dva zlomy v tomtéž místě. Došli k následujícímu závěru:

*„There are only certain fairly definite positions at which the chromatin may ordinarily be broken by irradiation, and, by the methods here used, it is possible to discover the totality of these positions within a region circumscribed in the way explained. The blocks of material between these positions may be regarded as ‚genes‘ and, if this is true, the distances apart of the dissimilar breaks studied in an experiment of this kind are of the same order of magnitude as the individual genes, and thus the absolute number of genes contained within the restricted region is determinable by prolonging the experiment until it has become probable, that each possible position of breakage has been represented by at least one breakage. ... A further line of evidence for the conclusion that the distances between the breaks in question were of the order of magnitude of individual genes emerged from the finding that one of the deficiencies of a region between two near-by breaks was not lethal in its phaenotypic effect, but produced conspicuous visible abnormalities, corresponding to previous inferences regarding the visible effects which would be produced by absence of just two specific genes (those for ‚yellow‘ and ‚achaete‘) lying in the region in question. Here then there is little doubt that the two breaks considered were separated by the space of just two genes. “*

„Je jen několik přesně definovaných pozic, na nichž je obvykle možné chromatin ozářením rozlomit a pomocí použitých metod je možné všechna tato místa v rámci daného regionu vymezit. Úseky materiálu mezi těmito místy mohou být považovány za ‚geny‘, a je-li tomu tak, pak vzdálenosti mezi nestejnými zlomy studovanými v obdobných experimentech odpovídají svou velikostí velikosti genů. Je tedy možné určit absolutní počet genů nacházejících se v určitém regionu, a to opakovaným prováděním tohoto experimentu až do chvíle, kdy bude zachycen alespoň jeden zlom v každém potenciálním místě zlomu. ... Další typ dokladů podporujících závěr, že vzdálenosti mezi dotýčnými zlomy odpovídají řádově velikosti jednotlivých genů, vychází ze zjištění, že jedna z deficiencí regionu mezi dvěma blízkými zlomy se neprojevila fenotypově jako letální, ale vytvořila zjevnou abnormalitu odpovídající dřívějším vývodům, co se týče viditelných důsledků způsobených nepřítomností pouze dvou specifických genů (*yellow* a *achaete*) ležících v dotčené oblasti. Pak už lze jen stěží pochybovat o tom, že oba uvažované zlomy od sebe byly vzdáleny právě o dva geny.“ (Muller, Prokofyeva 1935, s. 17–18)

Dodávají, že neobjevili žádný důkaz pro takové rozdělení genu, při němž by každá jeho část i nadále přetrvávala a normálně fungovala.

Výše uvedené tedy ukazuje pochopení genu jako úseku mezi místy dvou možných zlomů.<sup>99</sup> Genetický materiál považuje za nespojitý v tom smyslu, že jsou jeho jednotlivé kusy

---

<sup>99</sup> Pokud vzdálenosti mezi různými zlomy odpovídají velikosti jednotlivých genů, dá se alespoň přibližně určit počet genů v určitém úseku. Vzhledem k tomu, že se velikost úseku dá cytologicky stanovit (poměrně vůči

schopné samy se v novém uspořádání prosadit. Z hlediska funkce genů však je genetický materiál kontinuem, protože se sousední geny ovlivňují. (Muller, Prokofyeva 1935, s. 21–22)<sup>100</sup> Fenotypové změny provázené přeuspořádáními v blízkosti příslušných lokusů vykládají Muller a Prokofyeva jako výsledky změn v sousedství dotčených genů.

*„Where phaenotypic changes accompanying changes in the arrangement of genes are found to be very diverse (as in the case of the scute locus) our results show that an identical phaenotypic change accompanies an identical rearrangement, whereas different phaenotypic changes accompany different rearrangements. This constitutes crucial evidence that, in general, the apparent ‚mutational‘ changes accompanying gene rearrangements are really due to localized influences which propinquitous genes, or gene products, exert on one another (position effect). The position effect fades out at greater distances, but can extend over several genes, and over more than one chromomere in some cases. In this sense the genetic material is a continuum.“*

„Tam, kde jsou fenotypové změny doprovázející změny v uspořádání genů hodně rozmanité (jako v případě lokusu *scute*), se ukazuje, že určitá fenotypová změna je spjata s určitým přeuspořádáním, zatímco jiné fenotypové změny doprovází jiná přeuspořádání. To skýtá rozhodující podporu pro závěr, že jsou ‚mutační‘ změny provázející přestavby chromozomu skutečně podmíněné lokalizovanými vlivy, kterými na sebe sousední geny či genové produkty navzájem působí (poziční efekt). Poziční efekt postupně na větší vzdálenost mizí, nicméně se může projevovat na vzdálenost několika genů, v některých případech i přes více než jednu chromomeru. V tomto smyslu je genetický materiál kontinuem.“ (Muller, Prokofyeva, 1935, s. 25)

Výše popsaný pohled na gen se tedy snaží docenit poziční efekt. Upozorňuje, že pouhý výčet jednotlivých genů neposkytuje kompletní obrázek o daném jedinci, protože do hry vstupuje jejich uspořádání. Vzhledem k tomu, že se sousední geny navzájem ovlivňují, závisí jimi utvářené vlastnosti na oblasti o něco větší, než je jeden tradiční gen. Neboli ve funkčním smyslu se gen rozkládá na širší oblasti, než je oblast vymezená pomocí zlomů. Muller podotýkal, že se v tomto (funkčním) smyslu sousední geny nejen dotýkají, ale přímo překrývají. (O povaze působení sousedních genů nebylo známo nic určitého. Obvykle se uvažovalo o častějších interakcích mezi koncentrovanějšími produkty sousedících genů ve srovnání se interakcemi produktů vzdálenějších genů.)

Začátkem 40. let Muller ve spolupráci s H. Mackenziem ukazoval rozdíl mezi mutacemi a zlomy chromozomů. Ultrafialovým zářením vyvolávali mutace, aniž zároveň došlo ke zlomům v chromozomech. Rozdíl ve vztahu ultrafialového záření k mutacím a ke zlomům je

---

celkové velikosti chromomery), dá se odhadnout i celkový počet genů v chromozomu. Předběžné odhady vycházející z této metody vedou Mullera a Prokofyevu ke stanovení počtu genů na 5 až 10 tisíc. (Muller, Prokofyeva, 1935, s. 24)

<sup>100</sup> Funkční propojenosti chromozomu si v této době všímají hlavně studie oslabení dominance genů v blízkosti zlomu. Zeslabení dominance předvedli například N. P. Dubinin společně s B. N. Sidoroffem na lokusu *cubitus interruptus* na čtvrtém chromozomu u mušek *Drosophila*. (Dubinin, Sidoroff 1934)

vedl k představě, že by geny mohly být určitým segmentem chromonematu a že by spoje mezi jednotlivými částmi těchto segmentů měly jinou povahu než spoje mezi těmito segmenty samotnými. (Mackenzie, Muller 1940, s. 492) Mutace genů pokládali za důsledek absorpce ultrafialového záření, přičemž látka, která záření pohlcovala, měla být nukleová kyselina. Kvůli přesvědčení o její nedostatečné různorodosti ji však nepovažovali za sídlo genů. Tím měla být proteinová část chromozomu, nukleové kyselině připisovali roli jakéhosi přídavku k vlastní genové substanci. Protože ultrafialové záření pohlcovala nukleová kyselina, předpokládali přenos energie z nukleové kyseliny na vlastní genový materiál, tj. protein. Vzájemné propojení a uspořádání nukleové kyseliny a proteinu nebylo známo. (Muller nabízel čistě spekulativní představu, že nukleová kyselina vytváří spoje mezi proteiny.) Byli ale přesvědčeni, že změna v jejich uspořádání musí být provázána změnami ve spojích mezi jednotlivými proteinovými složkami. Proto očekávali předání energie z aktivované nukleové kyseliny na protein a v tomto smyslu považovali mutaci za nepřímý výsledek ozáření.

## 6.5. Zpětné mutace

Krátce poté, co mezi genetiky zdomácněl pojem mutace, byl u některých mutantů zaznamenán návrat fenotypu odpovídající původní (normální) alelomorfě. Zdálo se tedy, že alespoň v některých případech není mutace nevratnou změnou. Pro tento jev se užíval pojem **reverzní (zpětná) mutace**, obírají se jím například práce E. Baura, H. de Vriese, C. Corrense či R. A. Emersona, ve 30. letech pak především N. V. Timofejeva-Resovského.<sup>101</sup>

Většina raných studií vycházela ze situace, kdy se u pokusné rostliny – recesivního mutantního homozygota opět objevila dominantní alelomorfa. Teprve později se ukázalo, že se zpětná transformace nemusí týkat jen změny recesivní alelformy na dominantní, ale že může jít o transformaci dominantní alelformy v recesivní. O tom svědčí práce H. Teraa (1917), který objevil mezi normálně plodícími rostlinami rýže několik sterilních mutantů.

---

<sup>101</sup> Reverzní mutace byly nejprve zkoumány u rostlin, teprve později se tento jev zkoumal i u živočichů a následně i na mikroorganismech: de Vries, H. Species and Varieties, Their Origin by Mutation, *Nature*, 1905, 72: 309–339. Correns, C. Über Bastarde zwischen Rassen von *Zea mays*, nebst einer Bemerkung. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 1910, 28: 418–434. Emerson, R. A. The inheritance of a recurring variation in variegated ears of maize. *The American Naturalist*, 1914, 48: 87–115. Emerson, R. A. Genetical Studies of Variegated Pericarp in Maize, *Genetics*, 1917, 2: 1–35. Baur, E. Mutationsauslösung bei *Antirrhinum majus*. *Zeitschrift für Botanik*, 1930, 23: 676–702. Keeler, C. E. A Reverse Mutation from "Dilute" to "Intense" Pigmentation in the House Mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1931, 17 (8): 497–499.

Nová recesivní alelomorfa (zodpovědná za sterilitu rostlin) vznikla transformací dominantní alelomorfy, přičemž tento recesivní stav vykazoval silnou tendenci navracet se k původnímu dominantnímu stavu.

Existence reverzních mutací měla zásadní dopad na pojetí dominance a recesivity. Na počátku 20. století byla v duchu Batesonovy teorie přítomnost – nepřítomnost dominantní alelomorfa spojována se skutečnou přítomností dědičné hmotné jednotky, která v případě recesivní alelomorfy chybí. Vratnost změn přinášela jiný pohled na povahu alelomorf. Jak podotýká Terao, dominantní a recesivní alelomorfy mohly představovat dva alternativní stavy či fáze jedné dědičné substance. (Terao 1917, s. 698)

Po prvotním překvapení, které objev vratnosti mutací vyvolal, přibýlo pokusů tento jev vysvětlit. Jak už bylo v této kapitole uvedeno, velmi rozšířené bylo hledání spojitosti mezi mutacemi a *crossing-overem*. Na základě výzkumů lokusu *bar* u octomilky jsou tomu nakloněni např. A. H. Sturtevant a T. H. Morgan, kteří sledovali četnost reverzních mutací a případů *crossing-overu* v jeho blízkosti. (Sturtevant, Morgan 1923, s. 747)

#### 6.5.1. Odlišení supresí

Zájem o reverzní mutace u octomilky nepolevil ani v pozdějších letech, kdy bylo rozpoznáno nebezpečí záměny skutečných reverzních mutací se stavem vyvolaným supresivním působením nějakého jiného genu. Na nutnost odlišovat pouhou reverzi fenotypu, která může být podmíněna vlivem jiných genů, od skutečné zpětné změny jednoho konkrétního genu, upozorňuje práce O. Johnstonové a A. M. Winchestera (1934). Autoři při ní sledovali deset recesivních mutací na chromozomu X u octomilky. **Supresi** a skutečnou reverzní mutaci odlišovali následujícím způsobem: Pokud se v populaci vyskytl fenotypově normální jedinec, byl po několik generací křížen, aby bylo jisté, že tato změna skutečně nastala v zárodečné plazmě. S takto získanými samicemi normálního typu byli spáření samci s předpokládanou reverzní mutací a v F2 generaci se sledovaly případy *crossing-overu*. Pokud byly výsledky *crossing-overu* normální (tj. mutantní znak se neobjevil), jednalo se o reverzní mutaci. V případě, že by šlo o reverzi fenotypu, která by byla vyvolána supresorem, překřížení, které by tento supresor odstranilo, by umožnilo mutantnímu genu se projevit. (Johnston, Winchester 1934, s. 353) Vzhledem k tomu, že ze třinácti sledovaných fenotypových reverzí byla jen jedna způsobena supresorovým genem, soudí autoři, že jsou fenotypové reverze ve většině případů skutečnými genovými mutacemi. (Johnston,

### 6.5.2. Výklady supresí

První prokázané suprese byly recesivní mutace potlačující vliv jiných mutací. (Jedinci homozygotní pro supresorový gen v mutantní podobě a pro mutantní gen, na nějž supresor působil, odpovídali fenotypově divokému typu.) V některých případech se cytologicky prokázalo, že pozorovaná suprese souvisí s přítomností duplikovaného úseku chromozomu, přičemž supresivní působení měla na svědomí přítomnost divoké alelomorfy daného genu.<sup>103</sup>

Všechny pozorované suprese se ale pomocí duplikace nedaly vysvětlit. Objevuje se proto myšlenka, že supresi způsobila mutace, která postihla jakýsi gen daleko od suprimovaného genu. (Schultz a Bridges 1932) Obzvlášť propracované bylo studium suprese u octomilek typu *vermilion* (v), kde se využívalo transplantací tkáně v pozdním larválním stadiu. (Jedinci homozygotní pro supresor i pro *vermilion* se jen velmi málo lišili od divokého typu, ale bylo prokázáno, že recesivní mutantní supresor *vermilion* (su-v) není duplikací lokusu v. Gen su-v v přítomnosti normální alelomorfy v fenotyp mouchy nijak neměnil, neboli konstituce su-v v+ a su-v+ v+ byly shodné.) Pokud byl disk oka z mouchy typu *vermilion* (v) transplantován do jedince divokého typu, bylo oko normálně zbarvené. Z předchozích studií vyplývalo, že oko s genetickou konstitucí *vermilion* fenotypově odpovídá divokému typu, pokud na ně působí difuzibilní látka nazvaná v+.<sup>104</sup> V následném výzkumu se Beadle a Ephrussi (1936) snažili tuto látku v suprimované mouše typu *vermilion* prokázat. Dospěli k závěru, že pro vytvoření kýženého fenotypu jsou zapotřebí tři látky, jejichž vzájemnou provázanost lze zapsat schématem ca+ → látka v+ → látka cn+. (Beadle, Ephrussi 1936, s. 539) Autoři předpokládali, že moucha v má narušený krok vedoucí od látky ca+ k látce v+. Kvůli tomu tento jedinec postrádá jak látku v+, tak látku cn+. Mutace (změna) mouchy su-v+ v jedince s konstitucí su-v částečně obnovuje krok směřující od látky ca+ k látce v+. Moucha typu su-v v má jak látku v+, tak látku cn+ jen v menším množství než divoký typ. Toto vysvětlení odpovídalo pozorování, že octomilky s konstitucí

---

<sup>102</sup> Reverzní mutace určitého lokusu byly obecně méně časté než přímé mutace, přičemž poměr mezi nimi vycházel 1 : 12. Různé geny se četností svých reverzí lišily. (Johnston, Winchester 1934, s. 357)

<sup>103</sup> Suprese se zkoumaly především na lokusech *black*, *purple*, *sable* a *vermilion* u octomilky. (Bridges, C. B. *Vermilion-deficiency. Jour. Gen. Physiol.*, 1919, 1: 645–656.)

<sup>104</sup> Touto látkou, která se v přítomnosti mutantního genu *vermilion* v homozygotní podobě netvoří a jejíž produkci supresorový gen umožňuje, je kynurenin. (Beadle, G. W., Ephrussi, B., *The Differentiation of eye pigments in Drosophila as studied by transplantation. Genetics*, 1936, 21: 225–247.)

su–v v mají pigmentaci intermediární mezi divokým typem a *vermilion*. I následné pokusy byly v souladu s touto představou. (Schultz a Bridges 1932)

Vysvětlení suprese podobná zde uvedenému byla ve 30. letech běžná. Alelomorfám se připisovala zodpovědnost za přítomnost určité látky v organismu, mutace alelomorfy měly tvorbu této látky znemožňovat a supresorová mutace obnovovat. Tento konkrétní případ stojí za povšimnutí hlavně proto, že uvažuje soustavu na sebe navazujících reakcí, a připouští tedy představu, že tvorba konečné látky může být znemožněna různě.

Nové možnosti otevřelo používání mutantních kmenů mikroorganismů, které postrádaly schopnost syntézy určité látky. Ve srovnání s divokým typem (tzv. prototrofem) vyžadovali tyto mutanti přísun určité látky v médiu. Takto deficientní mutantní kmeny (tzv. auxotrofové) v některých situacích podstupovaly jakousi reverzi a obnovovaly původní nutriční stav. Tento typ výzkumů se ve 40. letech úspěšně prováděl na plísni *Neurospora*. Jako příklad zde můžeme zmínit výzkum M. Houlahanové a H. Mitchella (1947) na kmeni vyžadujícím přísun pyrimidinu.<sup>105</sup>

Při jejich zkoumání se ukázalo, že vliv mutace lokusu 3a, která bránila syntéze pyrimidinu, částečně potlačuje přítomnost mutantního genu na jiném lokusu. Studovány byly celkem tři fyziologicky odlišné kmeny, které vyžadovaly pyrimidin – S 34, S 210 a S 48, přičemž dva ze tří mutantních genů byly alelické. Supresi autoři vykládají v souladu s přesvědčením, že změna genu vede k přímé změně aktivity jednoho enzymu.<sup>106</sup> Rozdíly v růstu sledovaných alelických mutantů svědčily o tom, že se jeden gen dá pozměnit různě, přičemž každá změna vede k jiné změně činnosti příslušného enzymu. Přítomnost druhé (supresorové) mutace souvisela s tvorbou jakéhosi intermediátu v syntéze pyrimidinu, který v bezpyrimidinovém kmeni chyběl. Autoři navrhli dvě možná vysvětlení: Buď z neaktivního genového materiálu vznikl zcela nový gen, nebo byl změněn gen zodpovídající za tvorbu enzymu, který umožňuje průběh reakce v jiné syntéze. Tento enzym by nově katalyzoval

---

<sup>105</sup> K mnoha výzkumům byl používán i kmen, který nedokázal syntetizovat leucin. (Ryan, Lederberg 1946)

Ryan, F. J., Brand, E. A method for the determination of leucine in protein hydrolysates and in foodstuffs by use of a *Neurospora* mutant. *J. Biol. Chem.*, 1944, 154: 161–175.

<sup>106</sup> Přesvědčení, že se změna genu dotkne určitého enzymu, blíže rozebírá sedmá kapitola. V době, kdy studie Houlahanové a Mitchella probíhala, nebylo známo, který enzym by měl být ovlivněn. Také nebylo zřejmé, zda se vliv supresoru uplatňuje na úrovni funkce tohoto enzymu nebo na úrovni jeho tvorby. Tuto otázku řeší až pozdější práce. (Suskind, S. R., Kurek, L. I. On a Mechanism of Suppressor Gene Regulation of Tryptophan Synthetase Activity in *Neurospora crassa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1959, 45 (2): 193–196.)

i požadovanou reakci v syntéze pyrimidinu. (Houlahan, Mitchell 1947, s. 228)

Na práci Houlahanové a Mitchella navazují J. Lein a S. B. Leinová (1952), sledující spontánně vzniklou supresorovou mutaci, která umožňuje třem zmiňovaným mutantům růst, pokud je jim podán acetát. Svou prací autoři dokládají, že je acetát syntetizován dvěma způsoby, přičemž studované mutace znemožňují uplatnění hlavního způsobu jeho tvorby. Vedlejší způsob syntézy acetátu je zablokován některým produktem glukózového metabolismu. Supresorový gen podle nich umožňuje omezenou tvorbu acetátu tím, že otevírá normálně nevyužívanou cestu, blokovanou přítomností glukózy.

Představa, že zásah do vývoje znaku a jeho následné obnovení supresorem souvisí s nějakou inhibicí, se vyskytuje i v jiných případech. Existence inhibitoru se předpokládala například u supresí, které byly schopné jedním zásahem obnovit původní stav, který byl předtím ve dvou krocích změněn. Tohoto typu je studie auxotrofa *Escherichia coli* vyžadujícího histidin (kmen B/r), který se objevil po ozáření ultrafialovým světlem. (Witkin, Kennedy 1951) Po opakovaném ozáření a vystavení penicilínu se objevili diauxotrofové, kteří vyžadovali kromě histidinu i serin (kmen M2). Zaznamenaná četnost vzniku prototrofů byla tak velká, že ji nešlo vysvětlit náhodnými zpětnými mutacemi ve dvou nezávislých výživových požadavcích. Autoři studie se proto domnívají, že prototrofové vznikají v kmeni M2 díky supresoru schopnému překonat dva nezávislé metabolické bloky současně. Autoři soudí, že mutace bránící syntéze aminokyselin souvisí se vznikem inhibitoru, který supresorová mutace zneškodňuje. (Witkin, Kennedy 1951, s. 142)

Práce S. Emersona (1948) dokládá, že roli supresorů mohou převzít různé mutace, pokud patřičně ovlivní klíčový metabolický produkt. Na kmeni *Neurospora*, vyžadujícím přísun sulfonamidu, ukazuje, jak jistá reakce katalyzovaná kyselinou p-aminobenzoovou brání tomuto kmeni v růstu. Pro obnovení růstu je potřeba snížit množství této kyseliny, a to buď kompeticí sulfonamidů, nebo omezením tvorby této kyseliny. Emerson ukazuje, že jakákoliv mutace, která sníží obsah dostupné kyseliny p-aminobenzoové, umožní kmeni vyžadujícímu sulfonamid růst i v nepřítomnosti sulfonamidů.

Při studiu mutantů rodu *Neurospora* se také ukázalo, že některé supresory s sebou nesou určité výživové nároky. Tyto geny působily jako supresory na fenotypový projev určitého genu. V přítomnosti mutantních alel jiných genů však tyto supresory znemožňovaly jedincům provádět něco, čeho byli se supresorem a divokou alelou schopni. Těmto situacím se věnuje například studie Mitchellových, která sleduje supresi požadavku na přítomnost prolinu v médiu genem, který zároveň přináší požadavek na dodání pyrimidinu. (Mitchell a Mitchell 1952) Tato práce ukazuje, že změny ve fenotypu (tj. výživové nároky a jejich suprese) mohou

být výsledkem změn ve vyváženosti reakcí, přičemž tuto vyváženost může ovlivňovat mnoho mutantních genů. Neschopnost organismu zajistit určitou syntézu tedy nemusí nutně být způsobena nepřítomností nebo inaktivací potřebného enzymu. Příslušná mutace může znemožnit syntézu metabolickým antagonismem. (Doudney, Wagner 1955)

V průběhu 50. let se ustanovilo pojetí supresorových mutací jako:

*„changes which, though occurring at a genetic locus distinct from the site of a primary mutation, reverse the effect of the primary mutation.“*

„změn, které ačkoliv nastávají na jiném lokusu, než který je sídlem primární mutace, zvrátí účinek primární mutace.“ (Crawford, Yanofsky 1959, s. 1280)<sup>107</sup>

Někteří autoři supresi přímo označují za „extrémní typ genové modifikace“. (Haskins, Mitchell 1952) Jak naznačily výše citované práce, nejčastěji se působení supresorových genů vykládalo buď jako povolení syntézy kýžené látky alternativní cestou, nebo jako uvolnění inhibice. Další možný výklad, pro který však chyběly jakékoliv doklady, předpokládal, že se začne tvořit nový, účinný enzym místo enzymu, který byl kvůli primární mutaci nefunkční, případně zcela chyběl.

## 6.6. Transpozice

Kromě supresorových genů schopných svou změnou obnovit funkci, kterou organismus mutací jiného genu ztratil, existovalo i jiné vysvětlení vratnosti mutací. Pochází od B. McClintockové, která si při studiu krátkého ramene devátého chromozomu u kukuřice (*Zea mays*) povšimla nezvykle často mutujících lokusů. V literatuře se obvykle označovaly jako nestabilní, případně **mutabilní lokusy**. Známý byly především u octomilky. Že se tato genetická nestabilita vyskytuje i u jiných organismů, dokládá svou prací právě B. McClintocková. (McClintock 1950)

### 6.6.1. Výzkum transpozice B. McClintockové

Velké množství mutabilních lokusů objevila v potomstvu vzniklém samosprášením 450 rostlin, u nichž došlo v raném vývoji k drastickému zásahu do krátkého ramene devátého chromozomu. (Šlo například o duplikace, ztráty části chromozomu apod.) Zachycené mutabilní lokusy se daly rozdělit do dvou skupin (McClintock 1950, s. 346): První typ lokusů vyžadoval zvláštní aktivační faktor (aktivátor), aby se jeho nestabilita projevila. Nestabilita

---

<sup>107</sup> Primární mutací je myšlena taková mutace, která má přímý vliv na enzymaticky aktivní protein. (Crawford, Yanofsky 1959)



druhé skupiny lokusů byla na tomto faktoru nezávislá, McClintocková je proto nazývá autonomní lokusy. Mutace se daly rozlišit i podle jiného kritéria: U jedné docházelo k návratu exprese blízké divokému typu, u druhé se na dotčeném lokusu vytvořila řada alel, přičemž tyto alely odlišoval různý stupeň kvantitativní exprese normálního fenotypu. Oba typy mutací byly zaznamenány jak v případě lokusů vyžadujících aktivátor, tak u lokusů na aktivátoru nezávislých.

Spolu se změnami na mutabilních lokusech byly v somatických buňkách na jiném lokusu zaznamenány zlomy. Tento lokus byl označen *Ds* (*dissociation*), poněvadž na něm byla jako první z různých událostí zaznamenána disociace. Shoda ve frekvenci vzniku těchto zlomů a frekvenci vzniku oněch mutací vedla McClintockovou k závěru, že:

*„the changed phenotypic expressions of such loci are related to changes in a chromatin element other than that composing the genes themselves, and that mutable loci arise when such chromatin is inserted adjacent to the genes that are showing the variegated expression. The events occurring to this inserted chromatin are reflected in a changed expression of the neighboring genes, or sometimes in a loss of these genes. It is the inserted material that is undergoing the ‚mutational‘ events. The Ds locus is composed of this kind of material. ... Some of the events occurring at Ds would not by themselves suggest that changed conditions at this locus are associated with a breakage-inducing phenomenon. All of them can be explained, however, by the assumption that one kind of alteration of the inserted chromatin (the chromatin of the Ds locus) takes place, and that the various kinds of changes observed represent consequences of this one altered condition. This condition is assumed to be a stickiness of the materials composing the Ds locus.“*

„změněný fenotypový projev těchto lokusů vykazuje vztah ke změnám v jiných částech chromatinu, než které tvoří ty geny samotné, přičemž mutabilní lokusy se objevují ve chvíli, kdy se tento chromatin vloží do sousedství genů, které způsobují panašovaný vzhled. Události, které nastanou ve vloženém chromatinu, se odrážejí ve změněném projevu sousedících genů, někdy i v jejich ztrátě. Je to sám vložený materiál, který podstupuje ‚mutační‘ změny. Lokus *Ds* je tvořen právě tímto typem materiálu. ... Některé události na lokusu *Ds* by samy o sobě nenapovídaly, že je mezi změněnou situací na tomto lokusu a mezi vytvářením zlomů spojitost. Všechny tyto události se ale dají vysvětlit, předpokládáme-li, že došlo ke změně vloženého chromatinu (chromatinu lokusu *Ds*) a že rozmanité pozorované změny jsou následkem takto změněného stavu. Tímto stavem je myšlena lepkavost materiálů tvořících *Ds* lokus.“ (McClintock 1950, s. 347–348)<sup>108</sup>

Transpozici *Ds* studovala McClintocková u mutabilního lokusu *C* (*colour* – barva), kde dominantní alela genu *C* podmiňuje vytvoření barevného aleuronu, recesivní alela *c* je zodpovědná za bezbarvý aleuron. Starší studie předpokládaly, že *c* vzniká ztrátou, která postihla *C*. Ukázalo se však, že je možné obnovit fenotyp *C* z recesivní alely *c*. McClintocková upozornila, že se bezbarvý aleuron objevoval tehdy, když se v lokusu *C* objevil *Ds*. Znovuobnovení fenotypu *C* bylo spojeno s vymizením *Ds* z tohoto lokusu. Chování tohoto mutabilního lokusu proto McClintocková přičítá přemístění *Ds*.

---

<sup>108</sup> McClintocková uvažuje, že změny stavu lokusu *Ds* asi odráží různé množství vkládaného materiálu.

Předpokládá, že vložení chromatinu tvořícího *Ds* do sousedství lokusu *C* tlumí jeho normální projev. Vzhledem k tomu, že může být vložený chromatin odstraněn, může se obnovit původní působnost. Nejde tedy o skutečnou mutaci lokusu *C*, za jeho mutabilitu je zodpovědný materiál *Ds*. (McClintock 1950, s. 349)

McClintocková zjistila, že *Ds* vyžaduje aktivaci pomocí jiného elementu, který nazývá *Ac* (*activator*). Ten je děděný jako jedna jednotka, ale od klasických dědičných faktorů se liší podobně jako *Ds*: je často přemísťován, a to i z jednoho chromozomu na druhý. Jeho přítomnost způsobuje mutace lokusů, které by bez něj mutabilní nebyly. Obdobně jako u *Ds* může i u *Ac* dojít ke změně jeho stavu. Okamžik, kdy je *Ac* odstraněn či přenesen jinde, se časově shoduje se změnami na dotčených mutabilních lokusech.

*„The study of Ac and the Ac-controlled mutable loci has made it possible to interpret the many patterns of variegation exhibited by mutable loci. The variegated pattern is an expression of the time and frequency of occurrence of visible changes in the phenotype. The frequency of appearance of a visible mutation need not reflect the frequency of the events that occur at a mutable locus. The visible mutations reflect only the frequency of one or several particular consequences of one primary type of event occurring to the inhibiting material adjacent to the affected gene. The changes in state of this inhibiting material that arise as one of the consequences of the primary event, lead to changes in the relative frequency of the consequences of this event when it again occurs in future cell and plant generations. Such changes in state are reflected either in increases or decreases in the relative frequency of appearance of visible mutations. The study of Ac has indicated the nature of the control of the time when the mutations will occur at these mutable loci. The different doses of Ac together with the changed states of Ac control the time of occurrence of these mutations. The changes in time of occurrence of visible mutations are thus reflections of changes in dosage or changes in state of Ac.“*

*„Studium Ac a jím kontrolovaných mutabilních lokusů umožnilo vysvětlit různé typy panašování, kterými se mutabilní lokusy projevují. Panašování je projevem načasování a frekvence viditelných změn ve fenotypu. Četnost viditelných mutací nemusí odpovídat četnosti událostí, k nimž na mutabilním lokusu dochází. Viditelné mutace jen odrážejí frekvenci jednoho či několika málo důsledků jedné prvotní události, k níž došlo na tlumícím materiálu sousedícím s ovlivněným genem. Změny stavu toho tlumícího materiálu, které jsou jedním z důsledků té prvotní události, vedou ke změnám v relativní četnosti důsledků této události, k nimž opět dochází v následných buněčných a rostlinných generacích. Tyto změny stavu se projevují buď zvýšením, nebo poklesem relativního zastoupení viditelných mutací. Výzkum Ac naznačil, jakou povahu má kontrola načasování toho, kdy dojde na mutabilních lokusech k mutaci. Různé dávky Ac spolu s jeho změnami stavu řídí načasování mutací. Okamžiky, v nichž dojde k viditelné mutaci, jsou tedy odrazem změn v množství nebo ve stavu Ac.“* (McClintock 1950, s. 352)

McClintocková se domnívá, že materiál tvořící *Ac/Ds* je patrně heterochromatin. Připomíná, že se heterochromatinu připisuje spojitost s výměnou materiálu mezi jádrem a cytoplazmou. Změny v kvantitě, kvalitě či strukturální organizaci heterochromatinu by mohly ovlivňovat charakter či intenzitu této výměny, a kontrolovat tak relativní účinnost genového působení. (McClintock 1950, s. 354)

### 6.6.2. Goldschmidtova reakce na objevy McClintockové

Zájem o práci McClintockové poněkud omezil fakt, že svoje pokusy prováděla na rostlinách. Připomíná ji například M. Demerec (1955), který se také zabývá nestabilními geny. Stálost genů podle něj odpovídá schopnosti genů přesně se duplikovat, kterou může ovlivnit bezprostřední okolí, tedy i ostatní geny, v případě kukuřice právě přítomnost / blízkost faktorů Ds a Ac.

Skutečně vřelého přijetí se McClintockové dostalo hlavně u R. Goldschmidta. Goldschmidt upozorňuje, že se práce McClintockové hodně vzdaluje od klasické teorie genu, a domnívá se, že podporuje jeho skeptický názor na gen. (Goldschmidt 1950, s. 437) Ve výzkumu mutabilních lokusů kukuřice spatřuje paralelu k vlastní práci o intersexualitě motýlů, kterou blíže zmiňovala druhá kapitola disertace.

Goldschmidt si všímá, že frekvence mutací a jejich načasování závisí na dávkování Ac (čím vyšší dávka, tím později k mutaci dochází). Vyzdvihuje také poznatek, že ačkoliv se Ac a Ds chovají jako jednoduché lokusy v mendelovském smyslu, existují v různých stavech, přičemž vliv dávek a stavu je zaměnitelný – vysoká dávka spojená s nízkým stavem působí zhruba stejně jako vysoký stav společně s nízkou dávkou.

*„The results can be explained by the assumption that the states of Ac are actually quantities: the Ac locus is supposed to be composed of a number of sub-units which can increase and decrease as a consequence of what may be called mutation within the locus.“*

„Výsledky se dají vysvětlit předpokladem, že stav Ac je ve skutečnosti kvantitou: Můžeme uvažovat, že je lokus Ac složený z mnoha podjednotek, které mohou zvyšovat nebo snižovat projev toho důsledku, který lze pokládat za mutaci uvnitř lokusu.“ (Goldschmidt 1950, s. 439)

Goldschmidt připomíná, že i na recesivních mutabilních lokusech *c* (*colour* ovlivňujícím barvu aleuronu) a *wx* (*waxy* ovlivňujícím konzistenci aleuronu), které v přítomnosti Ac mutují v dominantní formu, se projevuje vliv dávkování. (Jedno mutabilní *c* vyvolá svou změnou projev odpovídající dominantní *C*, bude-li přítomno ještě jedno další, může být projev intermediární podobně jako u mnohočetných alel.)

*„The analysis of the fact points to the assumption that these loci consist also of a series of sub-units and that mutation consists in increases (graded or maximal) in the number of these units in a depleted (i.e., recessive) locus the visible effect being proportional to the number of units. The different states thus resolve themselves also into quantitative differences in the units.“*

„Analýza faktů poukazuje na to, že i tyto lokusy sestávají z řady podjednotek a že mutace spočívá v (odstupňovaném či maximálním možném) zvýšení počtu těchto jednotek ve vyprázdněném (tj. recesivním) lokusu, přičemž tento projev je úměrný počtu jednotek. Různé stavy by tak odpovídaly různému množství těchto jednotek.“ (Goldschmidt 1950, s. 439–440)

S popsanou situací u mutabilních lokusů kukuřice srovnává Goldschmidt dávkování pohlavních faktorů u motýlů rodu *Lymantria*. U tohoto rodu je přítomno stále stejné množství samičího faktoru (F, který se nachází v chromozomu Y), přičemž o výsledném pohlaví (zda půjde o samce, samici či o intersex) rozhoduje množství samčích determinantů M v chromozomu X. Jeden X (tedy jedna dávka samčího faktoru) je příliš malá na to, aby přehlušila samičí faktory, a proto v tomto případě vznikne samice. U různých ras bekyní *Lymantria* se můžeme setkat s různými potencemi, které jsou pro danou rasu konstantní. Je-li u určité rasy potence samičích faktorů slabší, pak i jedna dávka X může dát vznik samci. Jinými slovy nezáleží jen na poměru mezi dávkou samčích a samičích faktorů, ale i na síle (potenci) těchto faktorů. Goldschmidt v představě potenci nalézá obdobu stavů u kukuřice a odvolává se přitom na následující výrok McClintockové:

*„In an Ac Ac ac constitution (two doses) a low state Ac locus may give mutation patterns resembling that obtained from a high-state Ac ac ac (one dose) constitution.“*

„V sestavě Ac Ac ac (odpovídající dvěma dávkám) může nízký stav Ac lokusu způsobit takovou mutační podobu, jakou můžeme získat i z konstituce Ac ac ac (jedné dávky) s vysokým stavem.“ (McClintock 1948, s. 161)

Goldschmidt podotýká, že pokusy s rodem *Lymantria* prováděl v době, kdy se nijak nepochybovalo o korpuskulárním charakteru genu, a proto aby dostál kvantitativnosti genu, kterou ukazovaly jeho experimenty, pomohl si představou, že se gen mění na gen jiné kvality. Nová kvalita tohoto genu byla podle něj dána počtem molekul, které ho tvoří, přičemž právě tato kvantita kontroluje reakce zodpovědné za vývoj. Naznačenou myšlenku detailně rozpracoval v teorii genového působení.<sup>109</sup>

*„In the present case of maize the classic theory of the gene has already become shaky and therefore a more radical quantitative solution has been proposed by McClintock. She concludes, that the state of any one Ac locus is an expression of the number of reduplicate units present within this locus.“*

„V případě kukuřice je už teorie genu natolik otřesena, že je možné, aby McClintocková navrhovala radikálnější kvantitativní řešení. Dochází k závěru, že stav jakéhokoliv lokusu Ac vyjadřuje počet zmnožených jednotek přítomných v tomto lokusu.“ (Goldschmidt 1950, s. 444–445)

V souvislosti s McClintockovou a úvahami o dávkách genu Goldschmidt zdůrazňuje, že existují malé segmenty chromozomu, které se chovají jako jednotky, ale nedají se považovat za klasické geny. Nejmenší úsek chromozomu, který normálně mendeluje, se zdá být složený z podjednotek, přičemž projev tohoto úseku je úměrný počtu těchto podjednotek. Vedle práce

<sup>109</sup> Goldschmidt, R. Physiologische Theorie der Vererbung, Berlin, Springer, 1927. (Genetikové, kteří odmítali připisovat genu kvantitu, uvažovali obvykle větší počet genů ve vazbě.)

McClintockové, která Goldschmidtovi připomněla jeho vlastní představu genu obdařeného různými potencemi či kvantitativně působícími podjednotkami, odkazuje na představu bloků polygenů K. Mathera a na starší práce C. Corrense<sup>110</sup>.

Svůj názor, že je od objevu pozičního efektu pojem gen neudržitelný a že nemá cenu jej nadále používat, hájil R. Goldschmidt mj. na sympoziu v Cold Spring Harbor (1951). Dal také průchod své nelibosti vůči hypotéze jeden gen – jeden enzym. Odkazoval přitom na výsledky B. McClintockové, která na to takto zareagovala:

*„It will be noted that use of the term gene has been avoided in the foregoing discussion of instability. This does not imply a denial of the existence within chromosomes of units or elements having specific functions. The evidence for such units seems clear. The gene concept stems from studies of mutation. That heritable changes affecting a particular reaction, or the development of a particular character in an organism, arise repeatedly and are associated with a change of some kind occurring at one specific locus or within one specific region of a chromosome, has been established. This knowledge has been responsible for the development of a concept requiring unitary determiners. It cannot be denied, in the face of such evidence, that certain loci or regions in the chromosomes are associated in some manner with certain cellular reactions or with the development of particular phenotypic characters. This is not the major questionable aspect of current gene concepts. The principal questions relate to the mode of operation of the components at these loci, and the nature of the alterations that affect their constitution and their action.“*

„Všimněte si, že v předchozí debatě o nestabilitě nebyl použit termín gen. To neznamená popírání existence chromozomálních jednotek či elementů, které vykazují specifické funkce. Důkazy dokládající takové jednotky jsou jasné. Pojetí genu vychází z výzkumu mutací. Bylo ustanoveno, že se dědičné změny, které ovlivňují určitou reakci nebo vývoj určitého znaku organismu, objevují opakovaně a že jsou spojené s jistou změnou, která nastala na jednom konkrétním lokusu nebo v jedné konkrétní oblasti chromozomu. Toto poznání bylo zodpovědné za vývoj konceptu, který vyžaduje determinanty typu jednotek. Vzhledem k důkazům nelze popírat, že jisté lokusy nebo oblasti v chromozomu jsou nějak spjaty s určitou buněčnou reakcí nebo s vývojem jistých fenotypových znaků. To není na stávajícím konceptu genu tím nejvíce sporným. Základním předmětem sporu je způsob činnosti složek těchto lokusů a povaha změn, které ovlivňují jejich stavbu a působení.“ (McClintock 1951, s. 36)

Intenzivní výzkum mutací v první polovině 20. století ukázal ohromnou rozmanitost mutací z hlediska jejich projevů i příčin. Tento výzkum pochopitelně provázely úvahy o mnohočetném alelismu a o významu dalších genetických pojmů. Nový pohled na ně v mnohém vycházel z tzv. pseudoalelismu, kterému bude věnována osmá kapitola.

---

<sup>110</sup> Mather, K. Polygenic Inheritance and Natural Selection. *Biological Reviews*, 1943, 18 (1): 32–64. Correns, C. Vererbungsversuche mit buntblättrigen Sippen. I. *Capsella Bursa-pastoris albobariabilis* und *chlorina*. *Sitzungsberichte der preussischen Akademie der Wissenschaften*, 1919, 34: 585–610.

## 7. Stabilita genu a pojetí mutací inspirované enzymologií

Jak už bylo naznačeno v šesté kapitole, sledovala klasická genetika geny prostřednictvím jejich změn, které se projevily ve fenotypu. Malý počet spontánně vzniklých mutantů však byl výzkumu na překážku. Je tedy zřejmé, jak velký význam pro genetiky měl objev indukovatelnosti mutací. Mutagenní účinky záření popsal ve slavném článku z roku 1927 H. J. Muller<sup>111</sup>, který k umělému vyvolání mutací u octomilky využíval rentgenové záření. (Mutagenní účinky záření pozorovali v této době na houbových organismech také sovětští vědci G. A. Nadson a G. S. Filippov.) Ve 30. letech studoval indukované mutace například N. V. Timofeev-Ressovsky<sup>112</sup>. Pozornost vědců přitahovaly i značné rozdíly v četnosti vzniku mutací u různých genů. Zjišťování frekvence vzniku mutací a sledování faktorů, které ji ovlivňují, slibovalo dozvědět se víc o stabilitě genu. (Treffers et al. 1954, Woodward 1956) Sedmá kapitola si všímá právě takto zaměřených výzkumů 40. a 50. let, které společně s představami enzymologů zásadně ovlivnily pojetí mutací.

### 7.1. Sledování frekvence vzniku mutací

Pro pokusy s bakteriemi definoval M. Delbrück **mutabilitu** (*mutation rate*) jako pravděpodobnost, že bakterie během stanovené jednotky času a za určitých fyziologických podmínek zmutuje. Mutabilitu přirovnal k rozpadu radioaktivního atomu za jednotku času. (Delbrück 1945, s. 226) Aby bylo studium mutability smysluplné, pracovali vědci na geneticky čistých liniích, případně na stálých heterozygotech o známé genetické konstituci a sledovali mnoho mutací stejného typu. Hlavní problémy představovaly podchycení všech mutací (i nepatrných), vyšší úmrtnost mutantů oproti normálním jedincům a mnohdy obtížný výběr mutantů z potomstva.<sup>113</sup> Pěkným příkladem výzkumu, který si s těmito obtížemi

---

<sup>111</sup> Muller, H. J.: Artificial Transmutation of the Gene. *Science*, 1927, 22: 84–87.

<sup>112</sup> Timofeeff-Ressovsky, N. W. Das Genovariieren in verschiedenen Richtungen bei *Drosophila melanogaster* unter dem Einfluss der Röntgenbestrahlung. *Naturwissenschaften*, 1930, 18: 434–437. Timofeeff-Ressovsky, N. W., Zimmer, K. G., Delbrück, M. Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. *Nachrichten von der Gesellschaft der Wissenschaften zu Göttingen: Mathematische-Physikalische Klasse, Fachgruppe VI, Biologie*, 1935, 1 (13): 189–245.

<sup>113</sup> Jak se genetikové vyrovnávali se těmito požadavky, ukazuje sledování mutací u kukuřice. (Stadler L. J. Spontaneous mutation at the R-locus in Maize. I. The aleurone-color and plant-color effects. *Genetics*, 1946, 31: 377–394.) Inkriminovaný gen, jehož mutace Stadler zkoumal, měl čtyři alely ovlivňující produkci antokyanů.

poradil, je práce D. Lewise (1948). Lewis sledoval gen S ovlivňující úspěšnost oplození u vyšších rostlin, kde mj. ukazuje, že gen neodpovídá jedné mutační jednotce, že se gen dá rozdělit na několik mutačních úseků, mezi nimiž nedochází ke *crossing-overu*.

Gen S je zodpovědný za inkompatibilitu pylu. Když se při oplození v pylovém zrnu a vajíčku nacházejí shodné alely genu S, ke splynutí buněk nedojde. Pokud se alely liší, pyl je s vajíčkem kompatibilní a vzniká zygota. Občas však u inkompatibilních rostlin příslušná alela v pylovém zrnu zmutuje, tím pádem už se alely liší a nastává oplození. Svoje výzkumy prováděl D. Lewis na druhu *Oenothera organensis* a *Cerasus avium*. Obě rostliny používal i při zjišťování četnosti vzniku indukovaných mutací. Mutace vyvolával působením rentgenového záření, a to v okamžiku, kdy prodělávaly budoucí pohlavní buňky meiosis. V pokusech zaznamenal zvýšení počtu semen, resp. zvýšení produkce kompatibilních pylových zrn po opylení inkompatibilním pylem a připsal je právě indukované mutaci genu S.

Gen S musí mít podle D. Lewise alespoň dvě části, mezi nimiž nedochází ke *crossing-overu*.<sup>114</sup>

„For mutation to occur in one part of the S gene, without in any way affecting the other part, is exactly similar to the spontaneous independent mutation of the two parts of the R gene in maize (Stadler 1946). Thus, we are led to the inescapable conclusion that these genes are composite structures of parts which can reproduce without the presence of the other and hence the parts have the essential properties of genes. We have therefore the picture of a gene as a mechanical and functional unit which is equal to two mutational units. These units are held together in such a way at meiosis that no

„Aby mutace nastala v jedné části genu S a nijak neovlivnila jeho jinou část, to zcela odpovídá nezávislým spontánním mutacím dvou částí genu R v kukuřici. (Stadler 1946)<sup>115</sup> To nás vede k nevyhnutelnému závěru, že jsou tyto geny složené struktury, jejichž části se mohou reprodukovat bez přítomnosti ostatních částí, a vykazují tedy esenciální vlastnosti genů. Vystává zde představa genu coby mechanické a funkční jednotky, která se rovná dvěma mutačním jednotkám. Tyto jednotky jsou drženy pohromadě při meiose tak, že mezi nimi nedochází ke *crossing-overu*.“ (Lewis 1949, s. 353)

Dvě z nich se týkaly zbarvení endospermu, znaku potomstva ihned viditelného na semenech. Výhodný byl i rychlý zisk mnoha semen. Vhodným objektem pro podobné pokusy byly také bakterie, u nichž selekce mutantů spočívala ve využití jejich současné rezistence například vůči antibiotikům. Pokusům tohoto typu se věnovali S. Luria a M. Delbrück.

<sup>114</sup> Zkoumání tohoto genu v diploidním pylu tetraploidů odhalilo, že různé alely S, které spolu ve čnělce nijak neinteragují, vykazují vůči sobě v pylovém zrnu buď dominanci, nebo kompetici. Různé interakce v různých pletivech podle Lewise podporují teorii, že je gen tvořen dvěma částmi. Spekulace o tom, zda jsou alely genu S variantami jedné jednotky, nebo zda jde o přeuspořádání několika spolu svázaných jednotek, najde čtenář v této práci: Silow, R. A., Yu, C. P. Anthocyanin patterns in Asiatic cottons III. *Genetics*, 1942, 43: 249–284.

<sup>115</sup>

Stadler, L. J. Spontaneous mutation at the R locus in maize. I. The aleurone-color and plant-color effects. *Genetics*, 1946, 31: 377–394.

*crossing-over takes place between them.*“

Výše zmiňovaný L. J. Stadler uvažuje, že by se k odlišení alel určitého genu dalo vedle změn fenotypu použít právě rozdílů v míře, s jakou dané alely mutují. Pomocí tohoto kritéria by šly zaznamenat nejen takové rozdíly v konstituci genu, které jsou za hranici fenotypové rozpoznatelnosti, ale i ty bez vlivu na genové působení. (Stadler 1948, s. 307)<sup>116</sup> Stadler sám připouští, že vliv nejrozličnějších modifikátorů na frekvenci mutací je nesrovnatelně větší, než jaké jsou rozdíly v mutabilitě jednotlivých alel. V podobném duchu se nesou úvahy M. Delbrücka, který říká, že z rozložení frekvence mutací u dvou kmenů bakterií bychom teoreticky mohli usuzovat na jejich genetickou podobnost. (Tuto představu do značné míry vyvracejí M. Demerec a U. Fano<sup>117</sup>.)

Výzkumy octomilky<sup>118</sup> v této době ukázaly, že množství spontánních mutací závisí alespoň částečně na genotypu jedince a že některé geny mutabilitu výrazně mění. Například K. Mampell (1943) sledoval náhlý nárůst mutability, který byl připsán dominantnímu mutátorovému genu na druhém chromozomu. (Tento mutátor zvyšoval spontánní mutabilitu heterozygotů asi 34krát, mutabilitu homozygotů 70krát, což odpovídalo přibližně lineárnímu nárůstu mutability s rostoucí dávkou mutátorového genu.) Mampell takto uvažuje o způsobu jeho fungování:

*„Mutator genes probably act through a chemical medium ... It is possible that mutator genes interfere with the proper reproduction of genes and that by learning the nature of this mechanism we may know more about the chemistry of gene reproduction. Mutator genes rather than producing certain substances might be responsible for the lack of a substance necessary for growth and reproduction of genes in general. There is no good chance at this time to*

*„Mutátorové geny patrně působí chemickým prostředníkem ... Je možné, že mutátorové geny vstupují do interakce s řádnou reprodukcí genů, a že poznáme-li, jakým způsobem dochází k reprodukci, dozvíme se více i o jejím chemismu. Spíš než za tvorbu určitých látek mohou být mutátorové geny zodpovědné za nedostatek látek, které jsou obecně nezbytné při růstu těla a při replikaci genů. V současnosti nemáme lepší možnost, jak se o mutátorových genech něco dozvědět, než*

---

<sup>116</sup> Stadler se ve svých výzkumech soustřeďoval na lokus R u kukuřice. Jednotlivé odrůdy kukuřice se totiž velmi liší frekvencí vzniku spontánních mutací v tomto lokusu. Příkladem mohou být fenotypově téměř identické odrůdy R': *Quapaw* a R': *Cornell*, které se liší jen svým mutačním chováním. Mnoho R alel odlišují jen nepatrné fenotypové rozdíly, přesto nejsou stejné.

<sup>117</sup> Demerec, M., Fano, U. Bacteriophage-resistant mutants in *Escherichia coli*. *Genetics*, 1945, 30 (2): 119–136. Demerec, M. Induced mutations and possible mechanisms of the transmission of heredity in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1946, 32 (2): 36–46.

<sup>118</sup> Neel, J. V. A study of a case of high mutation rate in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1942, 27 (5): 519–536. Ives, P. T. The Genetic Structure of American Populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1945, 30: 167–196.



*learn much about mutator genes except the result of their activity.*“

z výsledků jejich působení.“ (Mampell 1943, s. 143)

O látkách ovlivňujících tvorbu genů hovoří i P. T. Ives, který studoval mutátorový gen *hi* (z anglického *high*, tj. vysoký) na druhém chromozomu. Byl-li jedinec v tomto genu homozygotní, mutovaly ostatní geny desetkrát častěji než v divokém typu. Protože geny patrně zajišťují fenotyp prostřednictvím tvorby určitého enzymu, mohl by podle Ivese gen *hi* vytvářet enzym, který „soutěží“ s enzymem zapojeným do normální reprodukce genů. Pokud vliv genu *hi* převáží, výsledkem bude vytvoření mutantního genu. Ives popsanou situaci zobecňuje a říká, že možná jsou spontánní mutace výsledkem změn chemického prostředí, v němž se geny reprodukuje, přičemž tyto změny mají na svědomí právě mutátory. (Ives 1950, s. 250) Rozdíl mezi intenzivně a málo mutujícími kmeny potom nespočívá v přítomnosti, resp. nepřítomnosti mutátorového genu, ale v přítomnosti různých alel mutátoru. Existence mutátorových genů navádí Ivese k myšlence, že genetické změny mohou být řízené (nikoliv ve smyslu „determinované“, ale „kanalizované“).

*„Spontaneous mutation is to be thought of not as a ‘chance’ failure of a gene to reproduce itself exactly, but as the result of the influence of the biochemical product of one gene upon the reproductive synthesis of another.“*

„Spontánní mutace by se neměly chápat jako ‚náhodná‘ selhání genu, který se nepřesně reprodukoval, ale spíš jako výsledek vlivu biochemického produktu jednoho genu na reprodukci jiného genu.“ (Ives 1950, s. 251)

## **7.2. Stadler: Pracovní vymezení mutace jako nezbytná podmínka definování genu**

Myšlenka, že jsou mutace genů nejspíš závislé na chemických podmínkách v okolí, se objevuje i u Stadlera. L. J. Stadler uvažuje o kumulativně působících modifikátorových genech, které mění podmínky zásadní pro vznik mutací. Vysokou mutabilitu nepovažuje za důsledek nestability určitého lokusu, nýbrž za důsledek výjimečné kombinace modifikátorů. Využití genů ovlivňujících mutabilitu by prý pomohlo poznat (a kontrolovat) povahu genové mutace. Například by se mohla vhodnou kombinací modifikátorových genů odstranit tradiční překážka studia mutací – jejich malý počet. Použití různých kombinací modifikátorů u různých alel by také mohlo odhalit vztahy mezi nimi.

Stadlerovy úvahy o mutacích stojí za podrobnější zmínku, protože mu pomáhají lépe uchopit pojem gen. Gen Stadler pokládá za úsek chromozomu se specifickou aktivitou, která ho vymezuje vůči ostatním genům. Tyto úseky mnohdy určují, zda proběhne určitá reakce,

a to alespoň někdy prostřednictvím tvorby příslušného katalyzátoru. (Stadler 1954, s. 811) Upozorňuje, že ke sledovaným změnám účinků může docházet z různých důvodů. Nemůžeme vyloučit, že to, co na první pohled vypadá jako změna genu, může být ve skutečnosti jeho ztráta, přidání jiného genu, prostorové přeuspořádání více genů apod.

Stadler zdůrazňuje, že je v této souvislosti naprosto zásadní nezaměňovat pozorované a jeho výklad, být si vědom rozdílu mezi pozorovanými fakty a jejich interpretací: Když řekneme, že mutaci vyvolalo působení rentgenového záření, nejde o prosté uvedení výsledku pokusů, ale o zkombinování výsledků pokusů s interpretací mutací. Zatímco pozorované skutečnosti přibudou do sumy vědeckých faktů, jejich výklad může být opuštěn.

*„To insist that x-rays induce gene mutation because the mutants induced satisfy all the accepted criteria of gene mutation, and that these mutants represent qualitative changes in specific genes because that is what we mean by gene mutation, is to adopt the dictum of Humpty Dumpty in Through the Looking-Glass. „When I use a word,” Humpty Dumpty said, „it means just what I choose it to mean – neither more nor less.“*

„Trvat na tom, že rentgenové záření indukuje mutace, protože takto vyvolání mutanti splňují kritéria genové mutace, a na tom, že tito mutanti představují kvalitativní změny v určitých genech, protože právě to označujeme pojmem genová mutace, je uvažování připomínající Valihracha z Alenky za zrcadlem. Valihrach říká: „Když použiji nějaké slovo, znamená přesně to, pro co jsem je vybral, aby znamenalo. Nic víc a nic méně.““ (Stadler 1954, s. 813)

Podle Stadlera je koncept genu zcela závislý na pojetí mutace: Kdyby to, čemu říkáme mutace, bylo ve skutečnosti změnou skupiny genů, pak bychom říkali gen skupině genů. Proto je pro Stadlera zásadní vědět, co je gen. Jeho pracovní pohled na gen vychází z toho, že zkoumaný objekt nemůžeme definovat předpokládanými vlastnostmi, ale výhradně pomocí úkonů, které se při zacházení s ním používají.

*„Operationally, the gene can be defined only as the smallest segment of the gene-string that can be shown to be consistently associated with the occurrence of a specific genetic effect. It cannot be defined as a single molecule, because we have no experimental operations that can be applied in actual cases to determine whether or not a given gene is a single molecule. It cannot be defined as an indivisible unit, because, although our definition provides that we will recognize as separate genes any determiners actually separated by crossing over or translocation, there is no experimental operation that can prove that further separation is impossible. For similar reasons, it cannot be defined as the unit of reproduction or the unit of action of the gene-string, nor can it be shown to be delimited from neighboring genes by definite boundaries.“*

„Pracovně lze gen definovat jen jako nejmenší úsek genového vlákna, u něhož může být demonstrována spojitost s určitým genetickým projevem. Gen nemůže být chápán jako jedna molekula, protože nemáme žádné experimentální prostředky, které by v konkrétním případě ukázaly, zda je daný gen jednou molekulou. Nemůžeme jej označit ani za nedělitelnou jednotku. Pomocí této definice sice odlišíme geny jako jednotky oddělitelné *crossing-overem* či translokací, avšak neexistuje experimentální operace, která by prokázala, že je jejich další dělení nemožné. Z podobných důvodů nemůžeme gen definovat ani jako jednotku reprodukce nebo jednotku působnosti genového řetězce, ani ho nemůžeme odlišit od sousedních genů jasně vymezenými hranicemi.“ (Stadler 1954, s. 814)

Stadler samozřejmě nechce říci, že nemá smysl uvažovat o těchto attributech genu. Pouze striktně trvá na požadavku, aby v definici genu figurovaly jen ty vlastnosti, které jsou podloženy výsledky dostupných experimentálních metod. Další vývody už v souladu s uvedeným považuje za nezávazné modely jakéhosi hypotetického genu. (Vzhledem k tomu, že se metody výzkumu vyvíjejí, dá se očekávat, že to, co dříve možné nebylo, jednou možné bude. Pracovní definice genu se tedy bude proměňovat.)

Stadler dokládá, že se v odborné literatuře můžeme setkat se slovem gen v obou naznačených významech: Jednou jde o pracovní (operacionální), jindy o hypotetický gen. Nejednotnost v pohledu na gen ilustrují výmluvně články R. Goldschmidta a A. H. Sturtevanta<sup>119</sup>: Goldschmidt po rekapitulaci dokladů pozičního efektu uvádí, že geny neexistují a že klasická teorie korpuskulárního genu musí být zamítnuta. Sturtevant cituje doklady o rozdílech mezi různými částmi chromozomů, o jejich potřebnosti k určitým reakcím a o tom, že se tyto oblasti chromozomů chovají při *crossing-overu* jako jednotky. Toto vše podle Sturtevanta dokládá existenci genů. Stadler dává za pravdu oběma stranám. Říká, že gen skutečně neexistuje, pokud uvažujeme onen specifický hypotetický gen. Pokud však bereme v úvahu pracovní pojetí genu, jak činí Sturtevant, dojdeme k závěru, že geny existují.

Zásadní problém definice genu spočívá podle Stadlera v tom, že nelze podat pracovní definici genové mutace. Chybí totiž kritérium, jak odlišit mutace (změny v jednom genu) od jiných změn, které se například dotýkají jen jeho exprese a pouze navenek vyvolají zdání genové mutace. Stadler proto konstatuje, že budeme-li nadále používat slovo mutace v takto širokém významu, budeme mít tendenci připisovat genům nestabilitu.

V tomto kontextu je vhodné připomenout, že za doklad genu coby celistvé jednotky byla považována existence mnohočetných alelomorf, jak to ve své práci popisuje T. H. Morgan (1919). Morgan uvažuje skupinu těsně svázaných genů: Když u jednoho jedince dojde v této skupině genů k recesivní mutaci jednoho z těchto genů a u jiného jedince zmutuje recesivně ve stejné skupině genů nějaký jiný gen, pak se při křížení obou jedinců projeví „atavistický typ“. A to je právě jev, který u alelomorf jednoho genu nenastává. Stadler podotýká, že tento přístup vylučuje možnost, že jde o skupinu svázaných genů, jen na základě předpokladu, že každá mutace je vždy změnou jedné jednotky v oné skupině. Kdyby naopak každá mutace

---

<sup>119</sup> Goldschmidt, R. The Theory of the Gene. *The Scientific Monthly*, 1938, 46 (3): 268–273. Sturtevant, A. H. Relation of Genes and Chromosomes. In *Genetics in the 20th Century*. Dunn, L. C. (ed.) Macmillan Company, New York, 1951, 101–110.

odpovídala ztrátě jedné či více sousedních jednotek příslušné skupiny, pak by skutečnost, že se křížení mezi nimi jeví alelické, automaticky nevyloučila představu složeného genu jako základu mnohočetných alelických řad.

### 7.3. Pojetí mutací inspirované enzymologií

Stabilitě genů a tomu, co vypovídá mutabilita genů o mutacích samotných, se věnují W. D. McElroy a C. P. Swanson (1951). Myšlenkově navazují především na práci K. G. Zimmera a M. Delbrücka<sup>120</sup>, kteří navrhli definovat mutaci jako jasně vymezené přeuspořádání určité molekuly. Rozdíly ve frekvenci vzniku spontánních mutací vysvětlovali Zimmer a Delbrück rozdíly v množství aktivační energie, která je nezbytná pro vstup genu do změněného stavu exprese. Malý rozdíl v aktivační energii podle nich zodpovídal za rozdílnou pravděpodobnost, že dojde k mutaci.<sup>121</sup>

O prosazení tohoto pohledu na mutace se zasazovali C. Auerbachová a J. M. Robson.<sup>122</sup> Předložili představu, že labilní genový stav, který může být důsledkem nějakého vnějšího vlivu, odpovídá jakési mělké brázdě mezi dvěma a více stabilními rovnovážnými stavy, do nichž se může gen po přidání malého množství energie posunout. (McElroy, Swanson 1951, s. 348) McElroy a Swanson chtějí do konceptu mutace zakomponovat představu přechodných stavů (odpovídajících normální alele), které mají navíc zvýšenou schopnost přesunout se do nového stavu s jinou expresí.<sup>123</sup>

---

<sup>120</sup> Zimmer, K. G., Delbrück, M. Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. *Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Fachgruppe VI, n. F.*, 1935, 1: 189–245.

<sup>121</sup> Na Delbrückovu práci se odvolává také E. Schrödinger v knize *What is life?* (1944), na kterou odkazují i McElroy a Swanson. Pojem mutace přibližuje Schrödinger čtenáři následovně (citováno podle českého překladu Schrödinger, E. *Co je život?* VUTIUM, Brno, 2004, ISBN: 80-214-3175-X):

„Budeme předpokládat, že struktura genu je obří molekula schopná jen nespojitě změny, spočívající v přeuspořádání atomů vedoucímu k izomerní molekule. Přeuspořádání může zasáhnout i jen malou oblast genu a možností různých přeuspořádání je bezpočet. Energiový práh oddělující danou konfiguraci od kteréhokoli z jejích izomerů musí být dostatečně vysoký (při srovnání s průměrnou tepelnou energií atomu), má-li být přeměna struktury dědičné substance řídkým jevem. Ukážeme, že těmito řídkými procesy jsou spontánní mutace.“ (Schrödinger 2004, s. 92)

<sup>122</sup> Auerbach, C. Chemical induction of mutations. *Proc. 8th Intern. Cong. Genet., Hereditas (Suppl. Vol.)*, 1949, 35 (1): 128–147. Auerbach, C., Robson, J. M., Carr, J. G. The Chemical Production of Mutations. *Science*, 1947, 105 (2723): 243–247.

<sup>123</sup> Tento pohled na mutace je do značné míry aplikací teorie, kterou se svými kolegy vytvořil H. Eyring (Eyring, H., Stearn, A. E. The application of the theory of absolute reaction rates to proteins. *Chem. Rev.*, 1939, 24: 253–

McElroy a Swanson v souladu s uvedeným předpokládají, že se alely navzájem liší molekulární konfigurací a že k jejich změně vede cesta přes aktivovaný komplex, přičemž přechod z počátečního stavu do konečného je ovlivněn překonáním energetické bariéry.

*„These assumptions require no drastic revision of our usual ideas of genic structure, since it is unlikely that anything other than biochemical reorganization underlies the changes which take place within the cell to determine its reactivity and its phenotypic expression. In this sense, it makes little difference in the present discussion whether we consider each gene to be a molecular individual and unique in a mendelian sense, or whether we consider that particulate genes do not exist as such, i.e., that the gene does not have sharply defined limits in size. In either case, the assumption is made that molecular change forms the basis of phenotypic alteration. It is, of course, well known that heritable changes which give rise to more or less permanent phenotypic alterations form a heterogeneous group, some being associated with chromosomal rearrangements and others not, and it is uncertain at the present time how far our interpretation may be applied. But for heritable changes unassociated with chromosomal rearrangement (point mutations) the assumption is made that such transformations are basically chemical, and therefore conform to the laws of chemical kinetics.“*

„Tyto předpoklady nevyžadují drastickou revizi našich běžných představ o genové struktuře, neboť je nepravděpodobné, že by změny, které se dějí v buňce a které určují její reaktivitu a fenotypovou expresi, byly čímkoliv jiným než biochemickou reorganizací. V tomto smyslu je jedno, zda spatřujeme v každém genu molekulární individuum, jedinečné v mendelovském smyslu, nebo zda se domníváme, že částicové geny neexistují, tj. že nejsou velikostně přesně ohraničené. V obou případech jde o předpoklad, že základem fenotypové změny je molekulární změna. Je samozřejmě dobře známo, že děděné změny, které vedou k víceméně stálým fenotypovým změnám, představují heterogenní skupinu, kdy některé jsou spjaté s přeuspořádáním chromozomu a jiné nikoliv, a že zatím není jasné, jak dalece platná je naše interpretace. Avšak co se týká dědičných změn, které nejsou spjaté s přeuspořádáními chromozomu (například bodových mutací), předpokládáme, že takové transformace jsou ve své podstatě chemické, a respektují tedy zákony chemické kinetiky.“ (McElroy, Swanson 1951, s. 352)<sup>124</sup>

Každá složitá proteinová molekula se může nacházet v mnoha stavech, které se navzájem liší stabilitou a geometrickými vztahy. Vztáhneme-li toto na gen, nedá se podle výše citovaných autorů říci, že by každý stav odpovídal jedné alele. Stavby se totiž od sebe musí lišit určitou minimální hodnotou, záleží tedy na citlivosti detekčních metod, jaký počet stavů u genu najdeme. McElroy a Swanson tuto situaci přirovnávají k nemnoha známým mnohočetným alelickým systémům, které vykazují kontinuální odstupňování exprese.<sup>125</sup>

---

270.). Podle ní dochází při průběhu reakce k posunu od výchozí konfigurace do konfigurace výsledné, a to přes mezistupeň, který se označuje jako aktivovaný komplex nebo přechodný stav reakce. Tento komplex je umístěn na vrcholu energetické bariéry a odpovídá normální molekule, která se následně posouvá k výslednému stavu. Rychlost průběhu reakce je dána tím, jak rychle překoná aktivovaný komplex onu bariéru. Energie, kterou molekula potřebuje, aby dosáhla aktivovaného stavu, se nazývá aktivační energie.

<sup>124</sup> McElroy a Swanson v textu výslovně říkají, že se nesnaží cokoli tvrdit o partikulární či jiné povaze genu.

<sup>125</sup> Příkladem může být práce S. Emersona (Emerson, S. The genetics of self-incompatibility in *Oenothera organensis*. *Genetics*, 1938, 23: 190–202.), který v lokusu S u druhu *Oenothera organensis* stanovil 45 různých

Autoři dokládají, že přechod z jednoho stavu do jiného (tj. změna alely, mutace) může být zajištěn různě. Jak často dochází k přechodu z jednoho konkrétního stavu do stavu jiného (tj. jak často dochází k určité mutaci), záleží na výšce příslušné energetické bariéry. Neboli různá výška bariéry u různých cest vysvětluje, proč jsou některé mutace méně časté.

*„Each stable gene state would be represented by a separate valley, linked to other allelic states on the same mountain by a series of interconnecting ridges or barriers ... On a molecular level, therefore, the various allelic states differ from each other in the shape, composition, and geometry of their constituent parts. These alterations will determine the phenotypic properties of the locus much in the manner that the geometry of an aldohexose determines its chemical characteristics.“*

„Každý stabilní genový stav si můžeme představit jako oddělené údolí, spojené s ostatními alelickými stavy na stejné hoře řadou propojujících hřbetů či bariér ... Na molekulární úrovni se od sebe různé alelické stavy liší tvarem, skladbou a geometrií jednotlivých částí. Tato pozměnění určují fenotypové vlastnosti lokusu podobně, jako geometrie aldohexózy určuje její chemické vlastnosti.“ (McElroy, Swanson 1951, s. 353–354)

Nastíněné pojetí mutace vede k několika závěrům: Ukazuje, že určitého genového stavu lze dosáhnout několika cestami, byť konkrétní genetická konstituce jedince jejich počet může omezit. Dále naznačuje, že průběh určité mutace lze usnadnit, pokud dodáme genu nezbytnou aktivační energii nebo snížíme energetickou bariéru. Podle McElroye a Swansona jejich práce podporuje představu genu, který je složený z nezávisle mutujících částí. Větší složitost genu totiž zvýší pravděpodobnost, že se v něm změní určitá část, aniž se změna dotkne jiné části. Autoři spekulují o možnosti, že mutageny jsou v buňce přítomny stále, pouze jsou před nimi geny za normálních okolností dostatečně chráněny pomocí látek, které o ně s mutageny „soutěží“.<sup>126</sup> Častější vznik mutací se potom dá vysvětlit útlumem látek soupeřících s mutageny nebo zvýšením produkce mutagenů.<sup>127</sup>

---

alel, nebo již zmiňované dílo J. L. Stadlera o lokusu R v kukuřici. (Stadler, J. L. Spontaneous mutation at the R locus in maize. III. Genetic modification of mutation rate. *Amer. Nat.*, 1949, 83 (808): 5–30.) Právě Stadler říká, že stejnost alel může být jen zdánlivá, přičemž ji způsobuje nedostatečně jemná detekce fenotypových rozdílů.

<sup>126</sup> Tato představa odpovídá běžně přijímanému pohledu na inhibici enzymů.

<sup>127</sup> Pro úplnost dodejme, jakým směrem se ubíraly úvahy o mutaci ve druhé polovině 50. let. Poměrně rozšířená a mnohými genetiky upřednostňovaná byla „error hypothesis“. Podle této hypotézy, kterou zastával například M. Demerec (1955), je mutace důsledkem chyby v genové replikaci, tedy chyby v kopírování. (Uvažovalo se o chybách v syntéze genových prekurzorů nebo o jejich enzymatické inhibici.) Proti ní stojí „unitary hypothesis“, která nehledá příčinu mutace v metabolických procesech, ale chápe ji jako náhlou změnu či substituci v již vytvořeném genovém materiálu. (Označení těchto hypotéz jsou přejata z článku H. E. Kubitscheka z roku 1960).

McElroy a Swanson tedy považují mutaci za biochemickou reorganizaci genu a docenují uspořádání či prostorový vztah jednotlivých částí genu (molekulovou konfiguraci). Protože jejich názory byly bezprostředně ovlivněny enzymologií, musí tu být ty nejdůležitější enzymologické představy zmíněny.

V první polovině 20. století byla obecně uznávanou hypotézou o působení enzymů **teorie „zámku a klíče“** od E. Fischera<sup>128</sup>. Enzymům byla připisována koloidní povaha. Soudilo se, že zapadají do molekuly se specifickou konfigurací jako klíč do zámku, přičemž každý enzym zapadá jen do několika málo substrátů. Výzkumy prováděné ve 20. letech stále více ukazovaly, že by těchto přesně připravených enzymů muselo být v buňkách obrovské množství. (Například J. H. Quastel<sup>129</sup> uvádí, že v bakterii *Escherichia coli* se oxidace účastní minimálně 56 enzymů.) Tyto enzymy si navíc dovedou poradit i s uměle vyrobenými látkami, s nimiž se buňka setká jen v laboratoři. Tyto poznatky oslabovaly původní Fischerovu teorii a vedly k jejímu přepracování zmiňovaným Quastelem.

*„Quastel and his collaborators conceive that an enzyme is not so much a specific chemical compound as the centre of a particular and sharply localized set of physico-chemical conditions. They suggest that at some colloidal surfaces centres exist where the arrangement of molecules may serve to set up powerful electric fields of force. Molecules having a certain configuration will be attracted and held by the fields of force at these centres. Of the molecules so attracted or adsorbed a certain proportion, having again a definite structure, will be so affected that an electron shift will occur, and they will pass into a condition which enables them very readily to undergo chemical change. This process Quastel terms 'activation'. Only certain molecules within the range of the field can be adsorbed, and of these molecules only some will be activated.“*

„Quastel a jeho spolupracovníci došli k závěru, že enzym není ani tak specifická chemická látka, jako spíš centrum určitého, přesně lokalizovaného souboru fyzikálně-chemických podmínek. Uvažují, že na některých koloidních površích existují jakási centra, jejichž molekulární uspořádání může posloužit při ustanovení mocných elektrických polí. Molekuly s jistou konfigurací budou do těchto center přitahovány a v nich drženy pomocí těchto silových polí. Z těchto přitahovaných či adsorbovaných molekul jich určitá část, opět s určitou přesně danou strukturou, bude ovlivněna tak, že v nich dojde k posunu elektronu a ony přejdou do stavu, který jim umožní velmi rychle prodělat chemickou změnu. Tento proces nazývá Quastel ‚aktivací‘. Adsorbovány mohou být jen některé molekuly v dosahu toho pole a jen některé z těchto molekul budou aktivovány.“  
(kol. aut. 1929, s. 611)

Enzymologie tedy obohatila genetiku o představu, že zvláště tvarované molekuly vytvářejí místo, kde dochází k aktivaci reagujících látek. Podle McElroye a Swansona konformační stav genu umožňuje uchopit metabolickou energii a substrát tak, aby došlo k příslušné změně. (McElroy, Swanson 1951, s. 361)

---

<sup>128</sup> Fischer, E. Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. *Berichte der deutschen Chemischen Gesellschaft*, 1894, 27: 2985–2993.

<sup>129</sup> Quastel J. H. The Study of “Resting” or Non-proliferating Bacteria. *Journal of Hygiene*, 1928, 28: 139–146.

V úvahách spojujících geny a enzymy má zásadní postavení **hypotéza „jeden gen – jeden enzym“**. Její autoři (G. Beadle a E. Tatum) uvažovali o tom, že vzájemně provázané reakce umožňují synchronizovaný vývoj tělesných struktur a funkcí v ontogenezi. Typ těchto reakcí, jejich vzájemný vztah a načasování připisují genům. Úspěch vývoje organismu proto vidí v integrovaném systému reakcí, o nichž vědí, že jsou kontrolované enzymy.

*„These genes which are themselves a part of the system, control or regulate specific reactions in the system either by acting directly as enzymes or by determining the specificities of enzymes. Since the components of such a system are likely to be interrelated in complex ways, and since the synthesis of the parts of individual genes are presumably dependent on the functioning of other genes, it would appear that there must exist orders of directness of gene control ranging from simple one-to-one relations to relations of great complexity. In investigating the roles of genes, the physiological geneticist usually attempts to determine the physiological and biochemical bases of already known hereditary traits. This approach, as made in the study of anthocyanin pigments in plants, the fermentation of sugars by yeasts and a number of other instances, has established that many biochemical reactions are in fact controlled in specific ways by specific genes. Furthermore, investigations of this type tend to support the assumption that gene and enzyme specificities are of the same order.“*

„Geny, které jsou samy součástí tohoto systému, kontrolují nebo regulují specifické reakce v systému buď přímým působením jako enzymy, nebo determinací specifických enzymů. Poněvadž složky tohoto systému jsou patrně složitě provázány a syntéza částí jednotlivých genů je asi závislá na fungování ostatních genů, zdá se, že zde musí existovat jakési uspořádání genové kontroly podle míry její přímosti, které sahá od jednoduchého vztahu jednoho ku jednomu až po složitější vztahy. Při zkoumání role genů se fyziologičtí genetikové obvykle pokoušejí určit fyziologický a biochemický základ již známých dědičných znaků. Tento přístup, uplatněný například při studiu antokyanových barviv rostlin, fermentace cukrů v kvasinkách a jinde, vedl k ustanovení představy, že je mnoho biochemických reakcí kontrolováno určitým způsobem určitými geny. Navíc výzkumy tohoto typu se zdají podporovat předpoklad, že specifická genů a specifická enzymů je téhož řádu.“ (Beadle, Tatum 1941, PNAS, s. 499–500)

Beadle a Tatum připouštějí, že geny působící prostřednictvím enzymů jsou pouhým předpokladem, neboť o zúčastněných enzymech nic konkrétního nevědí. Pouze spekulují, že by specifická genů mohla řádově odpovídat specifickým enzymům a že by enzymy (nebo jejich proteinové části) mohly být produktem genů. Autoři výslovně odmítají prvenství této myšlenky a upozorňují na podobné starší představy. (Beadle a Tatum 1941, *Amer. Nat.*, s. 116) Studie, které se nesly v tomto duchu, většinou zkoumaly „koncové“ reakce. (Tyto reakce nebyly pro utváření organismu zásadní a jejich narušení neovlivnilo životaschopnost jedince.) Z chemického hlediska byla nejpřístupnější tvorba pigmentů.<sup>130</sup> Je možné, že právě

---

<sup>130</sup> Na vybrané výzkumy tohoto typu upozorňuje první kapitola této disertace, jejich detailnější přehled najde čtenář v následujících textech: Lawrence, W. J. C., Price, J. R. The Genetics and Chemistry of Flower Colour Variation. *Biol. Rev.*, 1940, 15: 35-58. Goldschmidt, R. *Physiological Genetics*. New York and London, McGraw-Hill, 1938.

Komplikace, s nimiž se výzkum vývojových procesů potýkal, jsou vidět například v práci D. F. Poulsona. (Poulson, D. F. The effects of certain X-chromosome deficiencies on the embryonic development of *Drosophila*



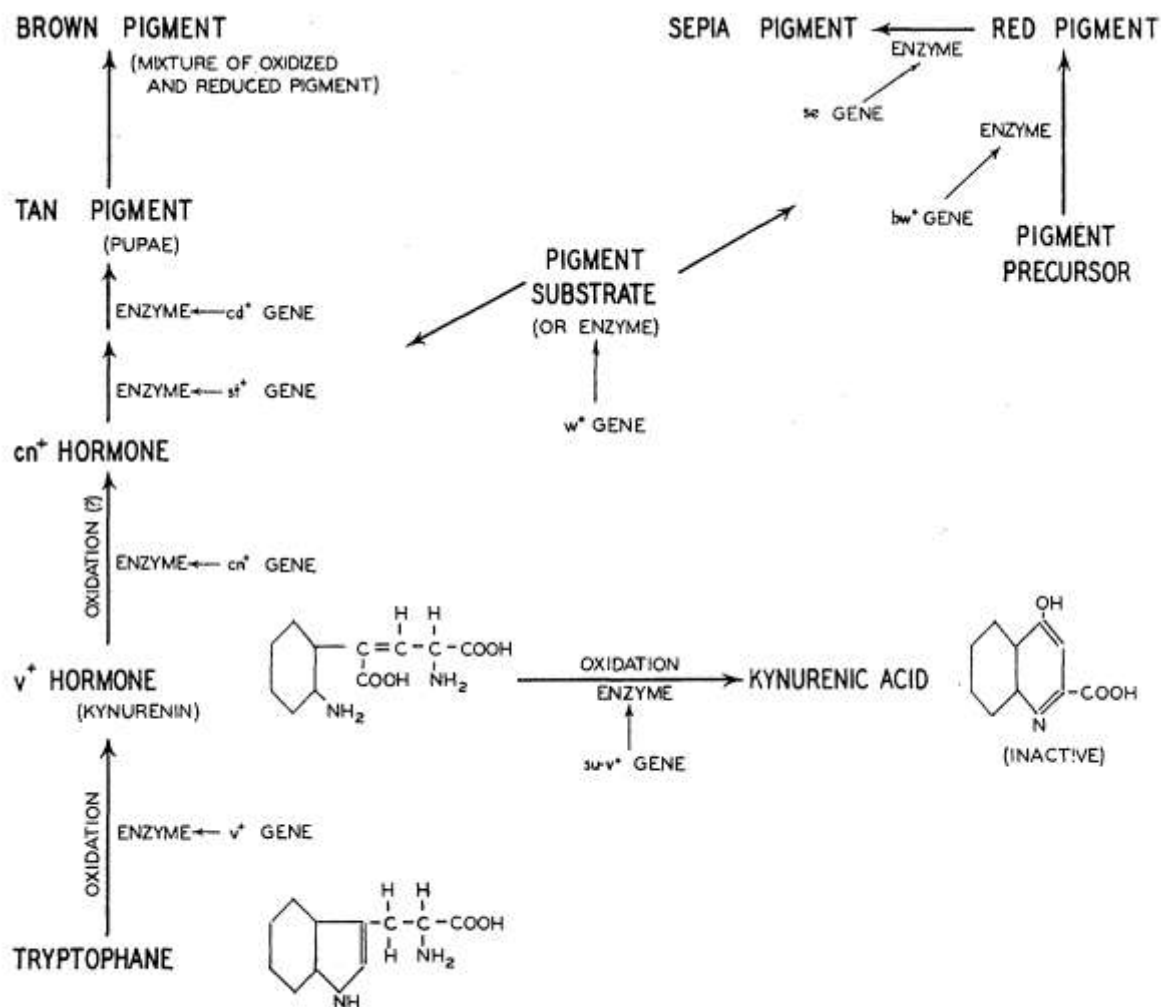
soustředění výzkumů na geny, které nejsou letální, podporovalo ve 20. letech přesvědčení, že geny kontrolují pouze nedůležité vlastnosti. (Tyto studie také vedly k soustředění zájmu na morfologické a dobře viditelné vlastnosti. Teprve uplatnění pokusného materiálu typu plísní či bakterií ve 40. letech umožnilo věnovat se genetice životně důležitých funkcí.)

Zatímco většina badatelů hledala chemický podklad známých vlastností, přístup Beadlea a Tatuma byl jiný: Snažili se určit, jak geny řídí známé biochemické procesy. Svoje pokusy prováděli na plísni rodu *Neurospora*, jejíž mutanti měli narušený průběh probádaných reakcí. (Tito mutanti například nebyli schopni po ozáření rentgenovým zářením využívat jako zdroj uhlíku sacharózu, nedokázali syntetizovat lyzin apod.) Mnoho sledovaných mutací vzniklo opakovaně (například neschopnost tvořit arginin), přičemž šlo o několik mutací různých genů. Odtud vzešla myšlenka, že tvorbu dané látky ovlivňuje několik genů a že stačí změna v jednom z nich, aby se látka nevytvořila.

*„Each synthesis is therefore under the control of a number of different genes of which the mutation of any one is sufficient to block the synthesis. The possibility immediately suggests itself that each gene involved in a particular synthesis controls one step in the chain of chemical reactions leading to a final product. The problem thus becomes the essentially biochemical one of determining the exact point of interference of a particular mutation in the normal metabolism of the organism.“*

„Každou syntézu ovládá určitý počet různých genů, přičemž mutace jednoho z nich postačuje k zablokování celé syntézy. Okamžitě se nabízí představa, že každý gen zapojený do určité syntézy kontroluje jeden krok v řetězci reakcí vedoucím k výslednému produktu. Problém je tak v zásadě biochemický, jde o to, určit přesné místo, kde určitá mutace zasahuje do normálního metabolismu organismu.“ (Horowitz et al. 1945, s. 310–311)

Případy, kdy se podařilo přiřadit jednotlivé geny k odpovídajícím reakcím v celé syntéze, Beadlea a Tatuma utvrdily, že mezi geny a reakcemi platí korespondence jeden ku jednomu. Právě toto převedení vlivu genů na jednoduché chemické reakce považují za první krok v analýze genového působení. (Horowitz et al. 1945, s. 317) Jak vypadaly konkrétní představy Beadlea a Tatuma, dokreslí obrázek 10.



Obr. 10 Tvorba očního pigmentu u octomilky – předpokládané reakce a zúčastněné geny. (Beadle, Tatum 1941, *The American Naturalist*, s. 114)

Pohled na vztah genů a enzymů poněkud zkomplikovalo zjištění, že jsou někdy buňky schopné i bez přítomnosti daného genu tvořit příslušný enzym. (Generace buněk si v přítomnosti substrátu uchovávaly enzym melibiázu, a to navzdory nepřítomnosti genu nutného pro zahájení jeho syntézy.) Aby se tato skutečnost vysvětlila, předpokládala se existence jakési cytoplazmatické duplikující se entity, která se účastní syntézy enzymů. Někdy býval za tuto entitu pokládán přímo onen enzym, jindy nukleoprotein. Ke druhé možnosti se kloní například S. Spiegelman, M. D. Kamen nebo H. J. Muller. Spekuluji, že je nukleoprotein nějak odvozený od příslušného genu a že překlenuje mezeru mezi genem v jádře a enzymem v cytoplasmě. (Právě nukleoproteiny prý jsou schopné poskytnout energii pro proteosyntézu.) Genové působení by v souladu s jejich představou mohlo vypadat takto:

„Genes continually produce at different rates partial replicas of themselves which enter

„Geny nepřetržitě produkují různou rychlostí částečné repliky sebe samých, které vstupují do

*the cytoplasm. These replicas are nucleoprotein in nature and possess to varying degrees the capacity for self-duplication. Their presence in the cytoplasm controls the type and amount of proteins and enzymes synthesized. These cytoplasmic self-duplicating units, like all such entities, would compete with each other, and the outcome of such competitive interaction would then determine the enzymatic make-up of the cytoplasm. Inherent in this concept is the possibility of changing the ultimate result of this competition by varying the conditions under which it takes place.*“

cytoplazmy. Tyto repliky jsou svojí povahou nukleoproteiny a vykazují v různé míře schopnost duplikace. Svou přítomností v cytoplazmě kontrolují typ a množství tvořených proteinů a enzymů. Tyto cytoplazmatické duplikující se jednotky, podobně jako ostatní takové entity, spolu soutěží a výsledek této interakce určí enzymatickou skladbu cytoplazmy. Tento koncept zahrnuje možnost, že se konečný výsledek tohoto soupeření změní, změní-li se podmínky, za nichž k němu dochází.“ (Spiegelman, Kamen 1946, s. 583)

Představa, že výše uvedená „částečná replika genu nukleoproteinové povahy“ putuje z jadra do cytoplazmy, předjímá mRNA, která tento přesun také absoljuje. (mRNA se sice v cytoplazmě nepomnožuje, nicméně „pomnožuje“ vlastní produkty.) Přitažlivost uvedené teorie spočívala mj. ve vysvětlení, proč buňky se stejným genomem neobsahují vždy stejné enzymy.

Představy popsané v této kapitole dokládají, jaký význam měla tvarovost molekul pro enzymology. Klasická genetika zpočátku uvažovala pouze o lineárním seřazení genů, jejich případnou prostorovost neřešila. Obecně rozšířené úvahy o prostorovém uspořádání (vytvarování) molekul enzymů však podněcovaly obdobné myšlenky i u genů. DNA byla v polovině 20. století, kdy byla určena jako dědičný materiál, vnímána jako lineární molekula. V této situaci se představy oceňující tvarovost molekul genů zdály zavádějící. Pozdější vývoj však tyto představy do jisté míry rehabilitoval, molekulární genetika totiž ukázala na význam prostorového „zkroucení“ vlákna DNA. Při utváření genetických představ opírajících se o tvar molekul hrály kromě enzymologie velkou roli imunologické výzkumy. Jejich vliv na uvažování genetiků přiblíží devátá kapitola.

## 8. Pseudoalelismus

Výzkum mutací ve 30. a 40. let 20. století, kterému se blíže věnovala šestá kapitola, pozměnil chápání některých genetických termínů. K jakým významovým posunům došlo, výstižně ukazují články M. Demerece z roku 1933 a 1955, které si všímají genu, lokusu, alelomorf a dalších pojmů.

Zavedení lokusu T. H. Morganem souviselo s objevem mnohočetných alel. Lokus označoval místo na chromozomu, kde je situovaná jednotka dědičnosti, gen. (Demerec 1955, s. 15) Demerece, kterého zajímala fyzikální povaha genu (jeho velikost, počet molekul, které ho tvoří), dovedly pokusy s rentgenovým ozařováním k názoru, že je gen jedna komplexní organická molekula. Očekával proto, že jeho stavba bude odpovídat běžné komplexní organické molekule (tj. bude mít hlavní a postranní řetězce...) <sup>131</sup>, a říkal:

*„By changing its constitution a gene may attain several forms. Different forms of the same gene are called allelomorphs. Certain genes have a larger known number of different distinguishable gene forms than certain other genes.“*

*„Změnou své konstituce může gen nabýt několika forem. Různé formy stejného genu se nazývají alelomorfy. U jistých genů je znám větší počet různých odlišitelných genových forem než u jiných genů.“ (Demerec 1933, s. 377)*

Pozdější srovnání reverzního mutanta, tj. jedince, který prodělal dvě po sobě následující mutace, z nichž druhá obnovila původní fenotyp, s divokým typem však ukázala rozdíl mezi změnou vpřed (mutací) a změnou zpětnou. Skutečnost, že se stejného fenotypu dá docílit různě, vyzdvihla nutnost rozlišovat fenotypový projev a fungování genu. Na základě studia reverzních mutantů *Escherichia coli*, kteří nebyli, resp. byli závislí na streptomycinu, dospěl Demerec v 50. letech k tomuto náhledu:

---

<sup>131</sup> Pro ilustraci, jak vypadají komplexní organické molekuly, uvádí Demerec v článku z roku 1933 schéma nukleové kyseliny.

Svůj pohled na alelomorfu dokládá Demerec výzkumem lokusu *white* u octomilky *Drosophila melanogaster*. Tento lokus ovlivňující barvu očí měl 11 tehdy známých alelomorf, mj. *red*, *eosin*, *apricot* a *white*. Formu *white* bylo možné získat změnou z alelomorfy *red*, *eosin* i *apricot*. Demerec uvažuje, že pokud jsou změny tvořící různé alelomorfy na sobě nezávislé a pokud odpovídají změnám v různých skupinách genové molekuly, pak by se mutanti *white* získaní z těchto tří forem měli od sebe lišit: při jejich reverzi by se alelomorfa *white* vzniklá z alelomorfy *red* měla opět přeměnit v *red*, zatímco alelomorfa *white* vzniklá z *eosin* (resp. *apricot*) by se opět přeměnila na *eosin* (resp. *apricot*). Dosavadní výzkumy prý tento pohled na alelomorfy podporují. (Demerec 1933)

„A gene locus comprises a section of a chromosome, and mutational changes occurring in different regions of the section give rise to different alleles. They also indicate that regions of the section may separate, and recombine with homologous regions within a locus of another chromosome.“

„Genový lokus zaujímá úsek chromozomu a mutační změny nastávající v různých oblastech tohoto úseku dají vzniknout různým alelám. Také se ukazuje, že se oblasti tohoto úseku mohou oddělit a rekombinovat s homologními oblastmi lokusu na jiném chromozomu.“ (Demerec 1955, s. 15)

Pohled, podle něhož různé alely téhož genu představují lokus pozměněný na různých místech, získal na síle mj. díky prokázané možnosti rekombinace mezi těmi oblastmi. Pokusy svědčily o lineárním uspořádání těchto oblastí. Tato představa vyhovovala mechanistické povaze novověké vědy, pro niž je ideálem přeuspořádávání základních součástí, které jsou považované za neměnné. V tomto ohledu je zřejmé, proč byl Mendelův odkaz na počátku 20. století tak nadšeně přijat. V rané genetice byl gen základní jednotkou popisu, kterou už nebylo potřeba dále rozkládat. Tuto představu velmi posilovala volná kombinovatelnost genů. Objev vazby genů s sebou přinesl představu jejich lineárního řazení na chromozomu. Původní představa genů jako kuliček shromážděných v jádře, která dostala oddělitelnosti jednotlivých genů, tedy ustoupila představě řetízku korálů. (V řetízku jsou korálky uspořádané jeden za druhým, každý korálek – gen má vlastní místo.) Citace z Demerecova článku navozuje dosti jinou představu, ke které přispěl níže popsáný výzkum tzv. pseudoalelismu.

### 8.1. Pojem pseudoalela

Označení pseudoalela se ve 40. a 50. letech užívalo pro takové geny, které vykazovaly následující charakteristiku: Byly umístěny v přímém pořadí na chromozomu, přičemž mezi nimi nebyl vymezený žádný jiný gen a *crossing-over* mezi nimi nastával jen zřídka. Jejich fenotypový projev byl podobný, ale ne totožný. Malý fenotypový rozdíl mezi pseudoalelami býval obvykle kvalitativní, nikoliv kvantitativní povahy. Heterozygot se obvykle blížil divokému typu víc než homozygoti<sup>132</sup>. Četné pokusy, o nichž bude v této kapitole řeč, byly vedeny především snahou doložit, že je oddělitelnost pseudoalel *crossing-overem* pravidlem, ne pouhou výjimkou.

---

<sup>132</sup> Tento jev se v literatuře označoval jako tzv. *covering effect*. (Komai 1950)

TABLE I  
Obvious and Probable Semi-allelic Genes in *Drosophila melanogaster*  
Selected from Bridges and Brehme's Monograph (1944)

| Gene       | Symbol     | Chromosome | Locus   | Phenotype   |
|------------|------------|------------|---------|---|
| chlorotic  | <i>cc</i>  | I          | -0.1    | Body greenish yellow  |
| yellow     | <i>y</i>   | I          | 0.0     | Body and bristles yellow  |
| silver     | <i>svr</i> | I          | 0.0 ±   | Body and legs pale, bristles dark   |
| pallid     | <i>pl</i>  | I          | 0.0 ± 1 | Body and wings pale   |
| achaete    | <i>ac</i>  | I          | 0.0 +   | Post-dorsocentrals gone, hairs fewer  |
| scute 1-   | <i>sc</i>  | I          | 0.0 +   | Loss of bristles in definite pattern  |
| Abruptex   | <i>Ax</i>  | I          | 3 ±     | L5 and other veins shortened, wings shortened, arched   |
| Confluens  | <i>Co</i>  | I          | 3 ±     | Veins thickened especially toward tips, <i>Co/Ax</i> = <i>Ax/+</i>  |
| lozenge    | <i>lz</i>  | I          | 27.7    | Eyes narrow, ovoid  |
| almondex   | <i>amx</i> | I          | 27.7 ±  | Eyes slightly reduced, narrow below, <i>lz/amx</i> = +, c.o. occurs between <i>lz<sup>s</sup></i> and <i>lz<sup>g</sup></i> |
| raspberry  | <i>ras</i> | I          | 32.8    | Eye color dark ruby   |
| vermillion | <i>v</i>   | I          | 33.0    | Eye color bright vermillion   |
| miniature  | <i>m</i>   | I          | 36.1    | Wings small, surface dark gray  |
| dusky      | <i>dy</i>  | I          | 36.2    | Wings small, surface dusky  |
| Star       | <i>S</i>   | II         | 1.3     | Eyes small, rough   |
| asteroid   | <i>ast</i> | II         | 1.3 +   | Eyes small, rough   |
| bright     | <i>bri</i> | II         | 54.3 ±  | Eye color bright red  |
| purple     | <i>pr</i>  | II         | 54.5    | Eye color purplish ruby   |
| light      | <i>lt</i>  | II         | 55.0 -  | Eye color yellowish pink  |
| lightoid   | <i>ltd</i> | II         | 56.0 ±  | Eye color like <i>lt</i> , but lighter, <i>ltd/lt</i> = +   |

TABLE I—continued

| Gene         | Symbol                | Chromosome | Locus  | Phenotype  |
|--------------|-----------------------|------------|--------|--|
| maroon       | <i>ma</i>             | III        | 49.7   | Eye color dull ruby  |
| rosy         | <i>ry</i>             | III        | 51.0 ± | Eye color deep ruby  |
| karmoisin    | <i>kar</i>            | III        | 52.0   | Eye color dull scarlet                                     |
| stubbloid    | <i>sbd</i>            | III        | 58.2   | Bristles condensed, wings shortened                        |
| Stubble      | <i>Sb</i>             | III        | 58.2   | Bristles much condensed, wings shortened                   |
| bithorax     | <i>bx</i>             | III        | 58.8   | Metathorax mesothorax-like, balancers enlarged             |
| bithoraxoid  | <i>bx<sup>d</sup></i> | III        | 58.8   | Metathorax somewhat mesothorax-like, balancers disc-shaped |
| glass        | <i>gl</i>             | III        | 63.1   | Eye color dilute, facets fused                             |
| glasslike    | <i>gl-1</i>           | III        | 64.0 ± | Eye color orange, eyes rough, small                        |
| cardinal     | <i>cd</i>             | III        | 75.7   | Eye color dull scarlet, ocelli white                       |
| white ocelli | <i>wo</i>             | III        | 76.2   | Ocelli colorless   |

Obr. 11 Přehled pseudoalel známých u octomilky *Drosophila melanogaster* na počátku 50. let. (Komai 1950, s. 384–385)

První případy pseudoalelismu byly objeveny při studiu mušek *Drosophila*<sup>133</sup>, záhy byl ale podobný jev popsán i u plísně *Neurospora*, dále u rodu *Aspergillus*, v kukuřici, bavlníku a jiných organismech. (Přehled pseudoalel popsáných u octomilky na počátku 50. let zachycuje obrázek 11.) Toto obecné rozšíření pseudoalelismu vyvolalo potřebu revidovat koncept genu. V roce 1954 bylo každoroční sympozium Americké genetické společnosti v Gainesville na Floridě zaměřeno na téma „Pseudoalelismus a teorie genu“. Jádrem této kapitoly tvoří příspěvky účastníků ze zmíněné konference, především z pera E. B. Lewise, J. R. Laughnana, M. M. Greena, C. Stormonta a S. G. Stephense. Doplněny jsou dalšími články z této doby (první polovina 50. let), a to především od R. Goldschmidta.

Samotný pojem pseudoalela odkazuje na dobu, kdy byly geny s výše popsanou charakteristikou považovány za alelické, tj. dosud nebyla známa jejich oddělitelnost *crossing-overem*. Základ slova pseudoalela připomíná **alelomorfu**, což byl termín zavedený W. Batesonem zhruba ve stejné době jako slovo genetika.<sup>134</sup> V rané genetice měla alelomorfa následující význam:

„One of a pair of contrasted characters which are alternative to each other in Mendelian inheritance. Often used with doubtful propriety as a synonym for gene, factor or determiner.“

„Jeden z páru proti sobě stojících znaků, které se v mendelovské dědičnosti navzájem vylučují. Často ale nevhodně používáno jako synonymum genu, faktoru nebo determinanty.“ (Shull 1915, s. 53)

Například T. H. Morgan píše o alelomorfe jako o různě pozměněných formách genu. (Morgan 1917, s. 519) Slovo **alela**, vzniklé zkrácením alelomorfy, bylo prvně použito na pátém mezinárodním genetickém kongresu uspořádaném v Berlíně roku 1927. K obecnému rozšíření tohoto slova pomohlo jeho užívání časopisem *Genetics*. (Shull 1935, s. 37)

„Allelomorphic (allele) is one of two dissimilar factors which on account of their corresponding positions in corresponding chromosomes are subject to alternative inheritance.“

„Alelomorfa (alela) je jeden ze dvou odlišných faktorů, které způsobují rozdílnou dědičnost z důvodu svých odpovídajících pozic na chromozomech. (Demerec 1935, s. 234)

Pro případy genů, které byly jen obtížně oddělitelné, nicméně se od sebe daly odlišit, byl zaveden pojem pseudoalely. (Zatímco alelomorfy mají na chromozomové mapě identické

<sup>133</sup> Oliver, C. P. A Reversion to wild-type associated with crossing-over in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1940, 26 (7): 452–454.

<sup>134</sup> Bateson, W. The progress of genetics since the rediscovery of Mendel's paper. *Progressus Rei Botanicae*, 1907, 1: 368–418.

souřadnice a na chromozomu se může vždy vyskytovat jen jediná, mají pseudoalely jiné souřadnice, byť jsou součástí lokusu.) Prvně se s tímto pojmem setkáme v roce 1938 v díle Morgana, Bridges a Schultze<sup>135</sup> při popisu případů, kdy se fenotypový projev u dvojité mutantního ( $m_1, m_2$ ) heterozygota lišil, byly-li obě mutace v pozici *cis* ( $m_1m_2/++$ ) nebo *trans* ( $m_1 +/+ m_2$ ). E. B. Lewis termín **pseudoalela** používá pro funkční alely, které mohou rekombinovat. Později používá označení poziční pseudoalela, které odkazuje k *cis-trans* pozičnímu jevu. (Lewis 1955) V literatuře se objevují i jiné názvy: Například I. J. Agol hovoří o částečném alelomorfismu, H. J. Muller o semialelách a T. Komai o genech-dvojčatech (*twin-genes*).<sup>136</sup> Ve 40. letech se nejčastěji setkáme s termínem pseudoalely, kterého se bude tato práce přidržovat.

Někteří autoři však mají vůči používané terminologii výhrady: J. Laughnan soudí, že ani jedno z výše uvedených označení nevystihuje společný rys těchto genů, kterým je úzká vazba mezi členy pseudoalelické skupiny a podobný fenotypový účinek. Domnívá se, že by s ohledem na jejich polohu vedle sebe na chromozomu více vyhovoval termín para-alelický.

„*Para*‘ (= *beside; alongside of*) indicates the anomalous side-by-side arrangement as distinguished from the usual opposite orientation and the word *allelic*‘ implies gene forms with similar phenotypic effects.“

„*Para*‘ (= vedle, podél) vystihuje ono anomální uspořádání bok po boku oproti obvyklému postavení naproti sobě a slovo *alelický*‘ poukazuje na geny s podobnými fenotypovými účinky.“ (Laughnan 1952, s. 110)

## 8.2. Dvě hlavní pojety pseudoalel

Účastníci gainesvillské konference se s pseudoalelismem setkali při studiu jakýchsi „rodin“ mutantních octomilek. Mutace spadaly do malého úseku chromozomu a členové těchto rodin se jeden druhému svými mutantními vlastnostmi velmi podobali. I když se tyto mutantní alely na první pohled chovaly jako geny, které dělají totéž, docházelo mezi nimi vzácně ke *crossing-overu*.

Klasický pohled bere v úvahu jako hlavní kritérium vymezení genu jeho separovatelnost *crossing-overem*, neboli gen chápe jako úsek chromozomu, ve kterém ke *crossing-overu*

<sup>135</sup> Morgan, T. H., Bridges, C. B., Schultz, J. Constitution of the germinal material in relation to heredity. *Yearb. Carnegie Instn.*, 1938, 37: 304–310.

<sup>136</sup> Agol, I. J. Evidence of the divisibility of the gene. *Anat. Rec.*, 1930, 47: 385. Muller, H. J. Genetics in the scheme of things. *Proc. VIII Intern. Congr. Genet.*, 1949, Suppl. Vol.: 96–127. Komai, T. Semi-Allelic Genes. *The American Naturalist*, 1950, 84 (818): 381–392. (Agolův spolupracovník N. P. Dubinin pro tyto případy používá označení schodišťový alelomorfismus - *Treppenallelomorphismus*. Dubinin, N.P. Allelomorphentreppen bei *Drosophila melanogaster*. *Biol. Zentbl.*, 1929, 49: 328–339.)



nedochází.

„Through the years and fortified with the knowledge that chromosomes are made up of more or less contiguous active patches, each having a different effect on phenotype and each separable from the others by crossing over, we have come to regard these patches as immutable from the effects of crossing over. In doing so, we have automatically defined the locus and the gene as a non-crossover region of chromosome.“

„Postupem let jsme si vyzbrojeni poznáním, že chromozomy sestávají z více či méně sousedících aktivních políček, která mají odlišný vliv na fenotyp a která jsou od sebe oddělitelná *crossing-overem*, zvykli předpokládat, že procházejí *crossing-overem* nezměněna. Tím jsme mimoděk vymezili lokus a gen jako úsek chromozomu nepodléhající *crossing-overu*.“ (Stormont 1955, s. 105)

Nový typ mutací ale toto chápání genu zpochybnil. Ukázal, že jsou tyto úseky vnitřně dělitelné, že *crossing-over* může nastat i uvnitř tohoto lokusu, přičemž někdy mohou být jeho dopady nerozlišitelné od dopadů jiných mutací tohoto genu. Protože termín alela se používal u klasických nedělitelných genů, začaly se označovat jiným pojmem - pseudoalela. C. Stormont zdůrazňuje, že mutantní pseudoalely interagují jako skutečné alely a nechovají se jako obyčejné geny ve vazbě. Běžná vazba genů a pseudoalelismus mají podle něj společné právě to, že se týkají *crossing-overu*.<sup>137</sup>

Také J. R. Laughnan konstatuje, že v tradičním smyslu jsou pseudoalely geny. Nicméně připomíná, že toto označení vypovídá jen o jejich oddělitelnosti *crossing-overem* a nemusí nutně znamenat, že mají členové jedné skupiny svoji individualitu. Podle něj z dosavadních zjištění neplyne žádný závěr ohledně jejich strukturálních atributů nebo prostorové orientace. Dodává, že pseudoalely mohou být považovány za představitele „vyšší úrovně organizace a complexity.“ (Laughnan 1955, s. 91)

Konference jasně ukázala dva hlavní přístupy k vysvětlení situací, kdy je dvojnásobný heterozygot v pozici *trans* ( $m_1 +/+ m_2$ ) mutantní (či má silnější mutantní projev) ve srovnání s heterozygotem v pozici *cis* ( $++ / m_2 m_1$ ), který mutantní není (resp. má slabší mutantní projev)<sup>138</sup>: První z nich vychází z představy, že jde o samostatné geny, které mají vlastní lokus a odlišnou funkci, a fenotypové rozdíly mezi pozicí *cis* a *trans* vysvětluje jako důsledek pozičního efektu. Tento pohled označuje E. B. Lewis jako genetickou interpretaci. (Mutanti odpovídají změnám různých jednotek, které označujeme jako geny, ať už se jedná o jedinou funkční jednotku, či nikoliv.) (Lewis 1955, s. 73)

Alternativní pohled na pseudoalely (podle Lewise funkční interpretace) spočívá

---

<sup>137</sup> Stormont připomíná, že někteří autoři kladou rovnítko mezi pseudoalelismus a geny ve vazbě. G. Green (1955) uvádí příklady mutantních alel, které jsou u jednoho druhu členy pseudoalelického systému, ale u jiného vystupují jako nezávislé mutantní geny bez vazby. Domnívá se, že mají patrně společný původ.

<sup>138</sup> G. Pontecorvo používá pro označení této situace název Lewisův efekt. (Pontecorvo 1955, s. 173)

na předpokladu, že jde o součásti většího „fyziologického“ genu, jehož funkce je nedělitelná, ale jehož části můžeme *crossing-overem* oddělit. Fenotyp by tedy měl odpovídat tomu, co se dá očekávat podle pravidla o dominanci / recesivitě. Oba výklady – buď pseudoalely jako různé geny, nebo jako části větší funkční jednotky - se liší tím, co považují za stěžejní pro vymezení genu: Na jedné straně stojí gen definovaný prostřednictvím vazebných vztahů, působení a mutability. Druhá strana nepožaduje, aby hranice genu vymezené pomocí vazby nutně odpovídaly hranicím genu vymezeným jeho funkcí.

*„While the precise spatial limits of any particular gene remain unknown, it has been convenient to adopt crossing-over frequency as an empirical measure of the distance between contiguous genes. This relationship has been adopted because of the repeatability of cross-over frequencies and because the cross-over event appears to occur without altering the integrity of the gene. The concept of the spatial gene must be supplemented with the idea that each gene may undergo mutation at a particular rate to one or more allelic forms without alteration in position and without change in the recombination relationship with its neighbors. The detection of this mutational event is based upon the fact that coincident with mutation to an allelic state a change in the functional role of the gene occurs which is ultimately manifested in the phenotype of the organism being studied.“*

„Třebaže přesné ohraničení jakéhokoliv genu není známo, bylo výhodné přijmout frekvenci *crossing-overu* jako empirické měřítko vzdálenosti mezi navzájem lineárně propojenými geny. To bylo přijato kvůli opakovatelnosti frekvencí *crossing-overu* a také kvůli tomu, že *crossing-over* patrně nenarušuje integritu genu. Koncept prostorově vymezeného genu musí být doplněn myšlenkou, že každý gen může v určité míře podstoupit mutace směrem k jedné nebo několika alelickým formám, aniž by byla změněna jeho pozice a aniž by se změnil rekombinační vztah vůči jeho sousedům. Zachycení této mutace je možné díky tomu, že spolu se změnou stavu alely dojde ke změně ve funkci genu, která se nakonec projeví ve fenotypu studovaného organismu.“ (Green 1955, s. 65)

G. Green zkoumá, zda dochází mezi mutanty pseudoalelického systému k funkčnímu rozrůznění, upozorňuje, že funkce genů a fenotyp nejsou synonyma, a shromažďuje doklady pro to, že funkční odlišitelnost pseudoalel s téměř nerozeznatelnými fenotypy není výjimkou, nýbrž pravidlem. Pseudoalelismus studoval na lokusu *vermilion* (*v*) u octomilky, na němž si povšiml, že jeho recesivní mutanti (*v*) jsou sice fenotypově nerozeznatelní, nicméně v přítomnosti nealelického supresorového mutanta je možné je na základě fenotypu rozdělit do dvou skupin. (O supresorech blíže pojednávala šestá kapitola.) Projev jedné skupiny je supresorem potlačen (*v<sup>s</sup>*), projev druhé skupiny nikoliv (*v<sup>u</sup>*). Klíčová je podle Greena právě role supresoru, která dokazuje, že mutanti *v<sup>s</sup>* a *v<sup>u</sup>* se skutečně liší funkcí, tedy že jde o geny s odlišnými lokusy a funkcemi. (Green 1954, s. 97–98)<sup>139</sup>

<sup>139</sup> Žádný (*v*) mutant není schopen syntetizovat tryptofan, což je základní krok v syntéze hnědého barviva očí. (Všichni mutanti shromažďují neproteinový tryptofan a v případě, že je jim dodán kynurenin, reagují tvorbou hnědého barviva.) To by ukazovalo na jejich funkční neodlišitelnost. Nicméně proti tomu stojí zjištění, že u některých mutantů dochází v přítomnosti nealelického supresoru nebo při vystavení larvy částečnému

### 8.3. Lewisovo genetické pojetí pseudoalel a *cis-trans* test

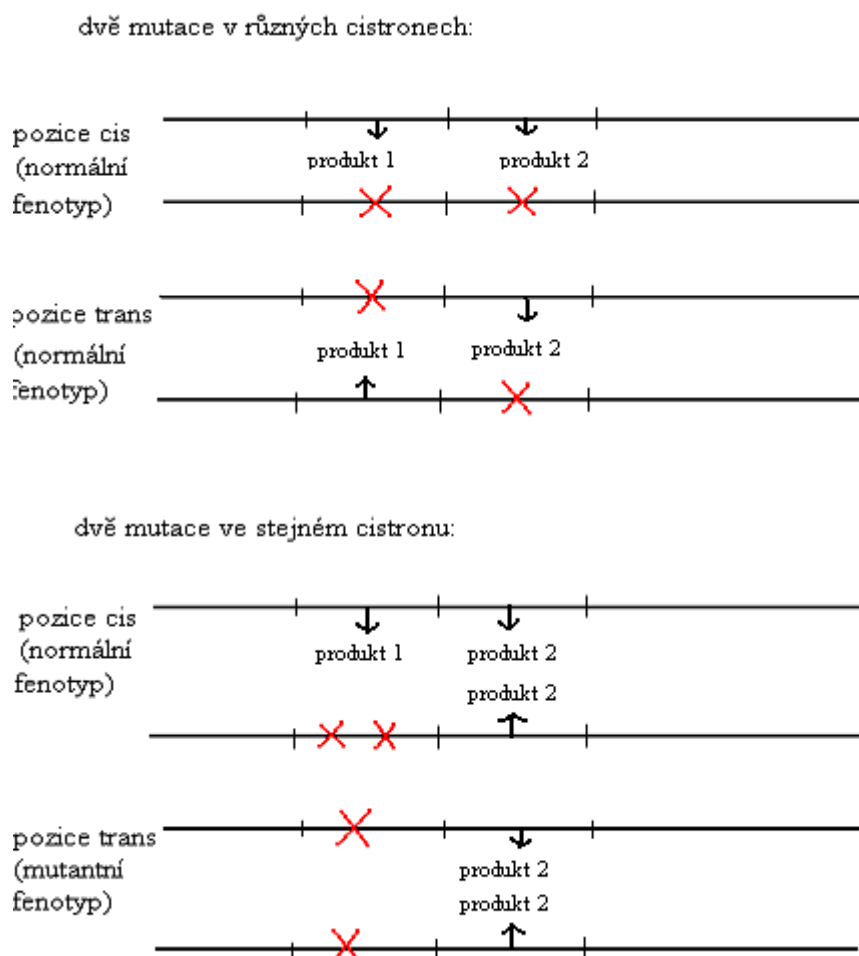
Na konferenci v Gainesville vystoupil i E. B. Lewis, který se podobně jako Green kloní ke genetické interpretaci pseudoalel a pseudoalelismus připodobňuje k interakcím na úrovni různých genových produktů. Podle jeho názoru spočívá hlavní svízel s funkční interpretací v tom, že není dostupné přijatelné kritérium pro vymezení funkční jednotky. Pouhé zdání funkční stejnosti ve zdokumentovaných případech nestačí, neboť dvě jednotky mohou docela dobře napodobovat působení jednotky jediné. Způsob, jak zjistit, zda patří dvě alely k témuž cistronu či ne, nachází v ***cis-trans* testu**. (Při křížení jedinců, z nichž každý nese jednu ze sledovaných mutací, se sledují potomci nesoucí obě mutace. Vykazuje-li jedinec s mutacemi v pozici *cis* i v pozici *trans* normální fenotyp, znamená to, že jde o mutace v různých genech. Vykazuje-li normální fenotyp pouze jedinec s mutacemi v pozici *cis*, jde o dvě mutace stejného genu. Princip *cis-trans* testu zachycuje obrázek 12.)

*„Two recessive mutants, a and b, are said to belong to the same cistron if the trans form of the heterozygote, or (a+/+b), has a mutant phenotype. To complete the test it must of course be shown that the cis form of the heterozygote, or (ab/++), has a wild-type phenotype. Since, in practice, the double mutant ab must be derived by recombination, the cis-trans test is intimately tied to a recombination test. When one mutant is dominant, or both are dominants, they can be said to belong to the same cistron if the cis and trans types differ phenotypically. Conversely, if cis and trans types are identical phenotypically, there is a strong presumption that the mutants belong to different cistrons.“*

„Dvě recesivní mutace *a* a *b* patří ke stejnému cistronu, pokud *trans*-forma heterozygota (*a*+/+*b*) vykazuje mutantní fenotyp. Aby byl test úplný, musí se také prokázat, že *cis*-forma heterozygota (*ab*/++) vykazuje normální fenotyp. Poněvadž v praxi je zapotřebí získat dvojitého mutantu *ab* rekombinací, je *cis-trans* test úzce spjat s rekombinačním testem. Když jsou jeden nebo oba mutanti dominantní, můžeme o nich říci, že přísluší témuž cistronu, pakliže se fenotypově liší jejich *cistyp* a *transtyp*. Naopak, jsou-li *cistyp* a *transtyp* fenotypově identičtí, je to silná známka toho, že mutanti patří k různým cistronům.“ (Lewis 1963, s. 35)

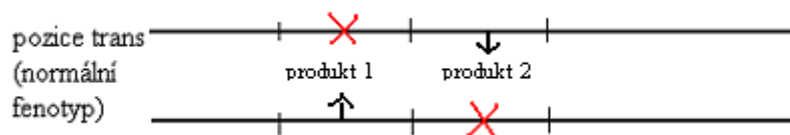
---

hladovění k tvorbě hnědého pigmentu. Navíc Green upozorňuje, že zkušený pozorovatel dokáže zachytit jemné fenotypové rozdíly mezi jednotlivými mutanty. (Obdobná je prý situace i v případě mutantních octomilek *bithorax-bithoraxoid*, které jde oddělit *crossing-overem* i poznat podle nuancí v jejich fenotypovém projevu.)



Obr. 12 Princip cis-trans testu, který odliší, zda se dvě mutace nacházejí v jednom či dvou cistronech.

Identifikuje-li tento test jako cistron shluk genů, které bývají úzce svázané a funkčně podobné, říká Lewis takovému shluku pseudoalelická řada a ztotožňuje ji s Benzerovou oblastí (*region*, viz níže v textu). Určité nejasnosti může vyvolat komplementace, interakce mutantních genů či jejich produktů u dvojitých mutantů. Jde o případy, kdy jsou zkříženi dva mutantní jedinci, každý s mutací v jiném genu, přičemž jejich potomek – heterozygot vykazuje normální fenotyp. Určit, zda jsou dvě mutace v tomtéž genu, umožňuje tzv. **komplementační test**, při němž se sleduje fenotyp heterozygotního potomka. Vykazuje-li heterozygot mutantní fenotyp, jde o alely téhož genu. Pokud vykazuje normální fenotyp, tj. došlo-li ke komplementaci mutací, patří obě mutace různým genům. (Portin 1993, s. 177) Komplementaci zachycuje obrázek 13.



Obr. 13 Komplementace, při níž vykazuje heterozygot v pozici trans normální fenotyp.

*„A gene may be thought of as a portion of the chromosome or genome which contains the information needed to specify the sequence of amino acids in a single protein or polypeptide. It is useful to define the gene in this way since it allows one to retain the widely applicable principle of "one-gene one-enzyme" or "one-gene one-polypeptide." However, it is important to keep in mind that this does not provide an operational definition of the gene.”*

„Gen můžeme považovat za část chromozomu či genomu, která nese informaci nezbytnou ke specifikaci pořadí aminokyselin či polypeptidu. Je užitečné si gen definovat právě tímto způsobem, neboť nám to umožňuje uchovat široce využitelný princip „jeden gen – jeden enzym“ či „jeden gen – jeden polypeptid“. Ale je nutné mít na paměti, že to není operacionální definice genu.“ (Lewis 1963, s. 33)<sup>140</sup>

## 8.4. Benzerův výzkum jemné struktury genu

Ke zjištění, zda jsou funkční jednotky vždy spjaty výhradně s jedním lokusem, používal G. Green rekombinační test. (Pokud by existovala spjatost mezi funkčním a prostorovým genem, budou v testu mutanti s jednou funkcí rekombinovat vždy s mutanty s jinou funkcí.) Získaná data podle Greena podporují funkční a prostorovou totožnost genu.

*„The spatial gene, the functional gene and the mutational gene are one and the same. Pseudoallelism does not invalidate but rather augments the unified gene concept.“*

„Prostorový, funkční a mutační gen je jeden a tentýž. Pseudoalelismus nezpochybní, jako spíše rozčlenil jednotnou představu genu.“ (Green 1955, s. 71)

Rekombinační test je úzce spojený s Benzerovým výzkumem jemné struktury genu. (1955). Benzer na chromozomu bakteriofága zkoumal funkčně provázanou oblast, která se dala rozčlenit pomocí rekombinace a pomocí mutací, které měly pseudoalelický charakter.

Rekombinaci používal Benzer k oddělování mutací a určení jejich pozice na chromozomu (chromozomová mapa). Upozorňoval, že i když mezi určitými mutanty běžně rekombinaci nezaznamenáme, neznamená to nutně, že se tyto mutace nedají oddělit. (Benzer 1955, s. 345) Aby zachytil i vzácně se vyskytující rekombinanty, využíval Benzer neschopnost mutantních bakteriofágů vytvářet plaky (tj. ničit bakteriální buňky) na kmeni *K Escherichia coli*.<sup>141</sup> Křížil dva mutanty v regionu *rII* tak, že kmen B infikoval stejným

<sup>140</sup> Operacionální definice vymezuje pojem pomocí úkonů, při nichž je tento pojem (zde gen) identifikován.

<sup>141</sup> Zatímco divoký typ fága na kmeni B a K vytváří plaky, mutanti ve sledovaném regionu *rII* tvoří plaky jen na kmeni B. Různí mutanti se od sebe liší mírou své neschopnosti množit se na kmeni K. Podle jejich chování vůči

množstvím obou typů mutantů. Kromě původních mutantních fágů získal i dva nové rekombinantní typy – dvojitého mutantu a divoký typ. (Zastoupení rekombinantů určoval podle poměru množství plaků na kmeni K, což odpovídalo divokým rekombinantům, a množství plaků na kmeni B, což odráželo veškeré potomstvo.) (Benzer 1955, s. 348–349)

Aby zjistil, zda nejsou sledované mutace alelami téhož genu, používal Benzer výše zmiňovaný *cis-trans* test. Pracoval s diploidními jedinci, kteří byli heterozygotní a obsahovali dvě mutace v různých konfiguracích. Jedinec s pozicí *cis* měl obě mutace na jednom chromozomu. Choval se jako divoký typ, neboť měl druhý chromozom nedotčený. Jedinec s pozicí *trans* nesl na každém chromozomu jednu mutaci. Pokud jeho fenotyp odpovídal divokému typu, vyvozoval z toho Benzer, že se jednalo o dvě mutace v oddělených funkčních jednotkách. (Benzer 1955, s. 349)

Aby odlišil velmi blízké mutace, používal Benzer tzv. *spot test*. Na kulturu kmene K vysel dva různé mutanty *rII* tak, aby alespoň některé bakterie byly infikovány oběma mutanty. Pokud po této infekci vznikly divoké rekombinanty, objevily se na kultuře plaky. V případě, že mezi mutanty nemohlo dojít ke vzniku divokého rekombinanta, žádné plaky se nevytvořily. (Benzer 1955, s. 350)

Naznačené výzkumy Benzera dovedly k závěru, že je region rozdělený do dvou funkčně odlišitelných částí. O možném vztahu mezi jejich funkcemi uvažuje takto:

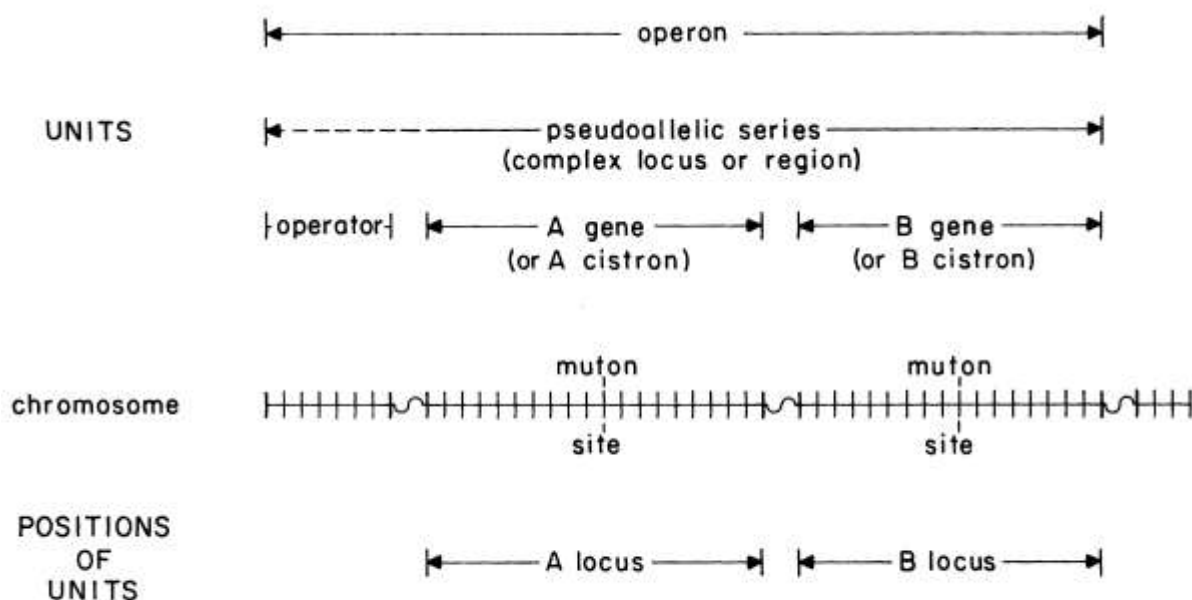
„*The phenotypic test for ,pseudo-allelism‘ leads to the division of the region into two functionally distinguishable segments. These could be imagined to affect two necessary sequential events or could go to make up a single substance the two parts of which must be unblemished in order for the substance to be fully active. For example, each segment might control the production of a specific polypeptide chain, the two chains later being combined to form an enzyme. While it is not known whether this sort of picture is applicable, a model of this kind is capable of describing the observed properties of the rII mutants. The map position of a mutation would localize a change in the region (and also in the ,enzyme‘ molecule), the reversion rate would characterize the type of change involved in the genetic material, and the degree of phenotypic effect would be an expression of the degree of*

„Fenotypový test ,pseudoalelismu‘ vede k rozdělení regionu na dva funkčně odlišitelné segmenty. Můžeme si představit, že tyto části ovlivňují dvě nezbytné po sobě jdoucí události, nebo že mohou vytvářet jedinou substanci, jejíž dvě části nesmějí být nijak porušené, aby ta látka byla plně aktivní. Například může každý segment řídit tvorbu určitého polypeptidového řetězce, přičemž dva řetězce se později spojí, a vytvoří tak enzym. I když není jasné, zda by to tak mohlo být, je tento model schopný popsat pozorované vlastnosti *rII* mutantů. Pozice dané mutace v mapě by označovala změnu v tom regionu (i v té ,enzymové‘ molekule), míra reverze by vystihovala typ změny, k níž došlo v genetickém materiálu, a stupeň fenotypového projevu by vyjadřoval míru z toho plynoucí změny v aktivitě enzymu.“ (Benzer 1955, s. 353)

jiným kmenům bakterií můžeme tyto mutanty rozdělit do tří skupin: Buď se projevují změněnou morfologií plaků na kmeni B, nebo u kmene S podmiňují morfologii plaků shodnou s divokým typem, nebo nejsou schopni tvořit plaky na kmeni K. Benzerem používaný mutant *rII* nebyl schopný vytvářet plaky na kmenech *E. coli*, které nesly fága λ.

*resultant change in the activity of the enzyme.*“

Podle E. B. Lewis má z pracovního hlediska největší význam tzv. recon, což je termín, kterým Benzer označoval jednotku rekombinace. (Benzer 1955) Nejmenší jednotka schopná intragenové rekombinace odpovídá mutonu. (Intragenová rekombinace je událost, při níž vznikají rekombinanty mezi blízkými místy v téže genu. Muton je nejmenší element, jehož změna vyvolá mutantní projev. Odpovídá jednomu páru bází a jeho pozici na chromozomu označoval Benzer jako „site“.) Alela pro Lewis znamená jedno z možných uspořádání mutantních stavů genu. V případě, že různé alely téhož genu představují mutační substituci na různých místech (*site*), hovoří o heteroalelách. V případě různých mutačních substitucí na tomtéž místě používá termín homoalely. (Lewis 1963, s. 35) Lokus chápe Lewis jako pozici, kterou zaujímá gen na chromozomu. Vztah mezi vybranými pojmy zachycuje obrázek 14.



Obr. 14 Lewisův pohled na vztah mezi základními genetickými pojmy. (Lewis 1963, s. 34)

## 8.5. Pseudoalelismus a představy o genovém působení

Lewis (1955) rozpracovává vlastní model genového působení, který odkazuje na kaskádu po sobě jdoucích biochemických reakcí. Vychází přitom z následujících předpokladů: 1) Normální alela pseudoalelického genu ( $a^+$ ) kontroluje určitou reakci, při níž se ze substrátu vytváří jistá látka, schematicky vyjádřeno  $S \rightarrow A$ . 2) Normální alela druhého genu pseudoalelické řady ( $b^+$ ) kontroluje reakci, kdy se z této látky vytváří látka jiná, neboli  $A \rightarrow B$ . 3) Mutantní alely znemožňují průběh těchto reakcí. 4) Látka A je produkována v blízkosti příslušného genu a podél chromozomu se poměrně rychle šíří. Tato rychlost je

větší než rychlost, se kterou se tato látka dokáže dostat k homolognímu chromozomu.<sup>142</sup>

Za uvedených podmínek budou normální alely v pozici *cis* téměř obvyklou měrou tvořit látku **B**, zatímco alely v pozici *trans* nikoliv. Jinými slovy tytéž alely mohou, ale nemusejí, vykazovat rozdíly v pozici *cis* a *trans*, a to v závislosti na strukturálních okolnostech v jejich blízkosti.

Důkazy pro svůj model nachází Lewis při studiu pseudoalelické řady *bithorax*<sup>143</sup> v tzv. *trans-vection* efektu. Lewisova představa vycházela z předpokladu, že se produkty pseudoalel nacházejí v jejich těsné blízkosti, přičemž produkt jednoho genu je dobře dostupný sousednímu genu v pozici *cis*, nikoliv však genu v pozici *trans*. Úzké spárování homologních chromozomů u dvoukřídlého hmyzu vede Lewise k domněnce, že by mezi těmito chromozomy mohlo docházet k „prosakování“ genových produktů, které by se projevilo jako slabá komplementace. Aby tento předpoklad otestoval, zkoumal Lewis v blízkosti řady *bithorax* chromozomální přeuspořádání **R**, které narušovalo párování chromozomů. Prokázanou větší odlišnost fenotypu *trans*-heterozygotů **R(a+)/(+b)**, resp. **(a+)/R(+b)** oproti divokému typu vysvětluje tím, že genový meziprodukt nemohl kvůli narušenému párování homologních chromozomů unikat z jednoho homologu na druhý. (Lewis 1955, s. 76) Tento jev, který představuje „komplementaci závislou na spárování homologních chromozomů“ (Duncan, Montgomery 2002, s. 2) a který odhalí právě narušené párování chromozomů, nazývá Lewis ***trans-vection* efekt**. (Jeho podstatu zachycuje obrázek 15.) Poziční efekt zjištěný srovnáním *cistypu* a *transtypu* (tj. *cis*- a *trans*-heterozygotů) nazývá Lewis pro odlišení *cis-vection* efekt. (*Cis-vection* efekt zjistíme při *cis-trans* testu. Lewis ho považuje za výsledek přesunu genového produktu od jednoho genu k dalšímu v *cistypu*.)

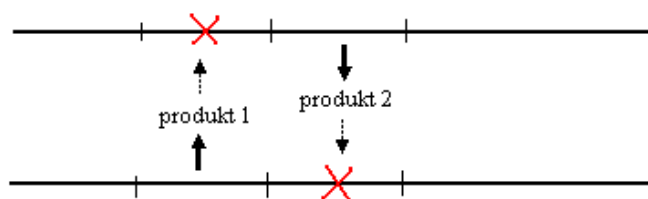
---

<sup>142</sup> Chromozomální vlákno je složitě stočené, a proto vzdálenost cytogenetická a vzdálenost genetická nebývá stejná.

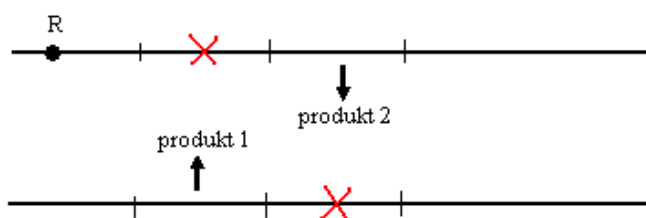
<sup>143</sup> Pseudoalelickou řadu *bithorax*, která ovlivňuje utváření hrudních segmentů octomilky, tvoří pět lokusů na třetím chromozomu. Od lokusu 58.8 jdou zleva doprava v následujícím pořadí: *bithorax* (*bx*), *Contrabithorax* (*Cbx*), *Ultrabithorax* (*Ubx*), *bithoraxoid* (*bxo*) a *postbithorax* (*pbx*). (Lewis 1955, s. 77)



I. transtyp bez chromozomálního přeuspořádání R (slabá komplementace)



II. transtyp s chromozomálním přeuspořádáním R (bez komplementace)



Obr. 15 Trans-vection efekt. Fenotyp trans-heterozygota s chromozomálním přeuspořádáním R se více odlišuje od divokého typu než fenotyp trans-heterozygota, kterému R nenarušilo párování chromozomů, a u kterého se proto objevuje slabá komplementace.

Popsané schéma genového působení označuje Lewis za **sekvenční reakční model**. Soudí, že normální alely tří genů vytvářejí tři látky, které působí při vývoji. Různou podobu vývoje tělních segmentů chápe jako výsledek různého množství těchto tří látek. (Lewis 1963, s. 49) Domnívá se, že tyto látky mohou být enzymy či jejich prekuzory a že působí jednak jako substráty pro následující reakci, jednak samy podmiňují jistý fyziologický proces.

*„The way in which the action of the bithorax genes is regulated during development can be formally understood if it is assumed that a posterior-anterior gradient exists in the concentration of a relatively non-diffusible substance which serves as the initial substrate (sequential reaction model) or as the inducer*

*„Způsob, jakým je regulováno působení bithorax genů ve vývoji, můžeme formálně pochopit, předpokládáme-li existenci předozadního koncentračního gradientu málo difuzibilní látky, která slouží jako výchozí substrát (podle sekvenčního reakčního modelu) nebo jako induktor (podle operonového modelu).“<sup>144</sup> (Lewis 1963,*

<sup>144</sup> Lewis se studiu pseudoalelismu věnoval celá 50. léta. Zde citovaný článek však vyšel o něco později, vztahuje se proto i k operonovému modelu ukotvenému už hluboko v molekulární biologii. Operonový model navrhli při studiu laktóзовého metabolismu *Escherichia coli* F. Jacob a J. Monod. (Jacob, F., Monod, J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *Jour. of Mol. Biol.*, 1961, 3: 318–356.) Na geny X, Y, a Z, jejichž exprese je v souladu s touto hypotézou regulovaná sekvencí DNA (operátorem), pohlížel Lewis jako na obdobu pseudoalel. (V roce 1995 získal Lewis za výzkumy genetického řízení raného embryologického vývoje Nobelovu cenu.)

Hlavní slabinou Lewisova modelu, na kterou on sám upozorňuje, je předpoklad, že proteosyntéza a enzymatické reakce musejí probíhat v blízkosti genů na chromozomu. Biochemická zkoumání však svědčí o tom, že jsou situovány v cytoplasmě. (Lewis 1963, s. 51)

Lewisův pohled na pseudoalelismus (který byl výše nazýván „genetický“) s sebou přináší nové pojetí funkční jednotky:

*„The ‚functional‘ interpretation has to explain such results in terms of a concept of a single functional unit of probably considerable complexity – analogous to the old concept of the gene as deduced from the behavior of complex ‚multiple allelic‘ series. The ‚genetic‘ interpretation explains such results in terms of a working hypothesis in which each of the component genes of the series acts as a functional unit in the modern sense – namely, as an agent controlling a single, specific reaction.“*

„Funkční‘ interpretace vysvětluje výsledky pomocí představy jedné funkční jednotky, pravděpodobně velmi složité, která je analogická starému konceptu genu vyvozenému z chování složitých ‚mnohoalelických‘ řad. ‚Genetická‘ interpretace tyto výsledky vykládá pomocí pracovní hypotézy, v níž každý z dílčích genů té řady působí jako funkční jednotka v moderním slova smyslu – tedy jako agens kontrolující jedinou specifickou reakci.“ (Lewis 1955, s. 87)

Také G. Pontecorvo (1955) předpokládá krokovitý průběh reakcí, k němuž dochází podél inkriminovaného úseku chromozomu. Jednotlivé reakce jsou podle něj uspořádány podél chromozomu i v čase. Pontecorvo soudí, že pseudoalelismus může vysvětlit nestabilita meziproductů těchto reakcí či jejich pomalý rozptyl. Je-li vzdálenost dvou mutačních míst větší než průměrná vzdálenost dvou homologních chromozomů, poziční pseudoalelismus nenastává. Pontecorvo si pomáhá představou, že je chromozom obklopen uzavřenými nádobami, v nichž reakce probíhají. Přirovnává chromozom k trubici s otvory – do jednoho otvoru natéká substrát, v trubici probíhá reakce a dalším otvorem vytéká produkt. Mutační místa, která se nacházejí v úseku mezi dvěma sousedními otvory, vykazují poziční pseudoalelismus. Místa, která jsou v různých úsecích trubice, nikoliv.

Otázku, jak je zajištěno působení pseudoalel, řeší také A. Chovnick a A. S. Fox (1953).<sup>145</sup> Pseudoalely pojmají jako mezistupeň ve vytváření jednotlivých genů, k němuž

---

Sekvenční reakční model může ve čtenáři evokovat problematiku polárních mutací, tj. mutací, které – řečeno soudobou terminologií - ovlivňují transkripci genů ležících *downstream*. Model souvisí i s vysvětlováním morfogeneze, kdy lokální biochemické signály vedou v určité skupině buněk k vývoji morfologických struktur.

<sup>145</sup> Ve své studii pracují na mutantech octomilky typu *lozenge*. Tito mutanti se odlišují především utvářením očí, ale vykazují i nestandardní tvar tykadel a čelistí, samice také pozměněnou fertilitu. Chovnick a Fox mj. prokázali existenci interakce mezi nealelickými lokusy při určování antigenní specifity. Jejich práce také ukazuje, že

dochází replikací genetického materiálu a jeho následnou diferenciací. (Chovnick, Fox 1953, s. 1042) Fyziologické rozrůžňování pseudoalel může podle nich probíhat třemi cestami, přičemž dosavadní znalosti nemohou vyloučit ani jednu z nich:

*„(1) With slight changes in substrate specificity pseudoallelic loci could become associated with successive steps in a sequence of reactions, (2) they could be modified in such a manner as to convert the same substrate into different products, or (3) each locus could be concerned with the transformation of two or more substrates, and differentiation could take the form of a gradual shift in 'substrate spectrum.' The first possibility is incorporated in the hypothesis of position pseudoallelism proposed by Lewis and by Pontecorvo.“*

„1. Malou změnou v substrátové specifičnosti mohou být pseudoalelické lokusy spojeny s po sobě následujícími kroky v sekvenci reakcí. 2. Mohou být pozměněny tak, že přeměňují tentýž substrát na různé produkty. 3. Nebo se může každý lokus starat o transformaci dvou nebo více substrátů a diferenciaci může mít podobu postupného posunu v 'substrátovém spektru'. První možnost je včleněna do hypotézy pozičního pseudoalelismu navržené Lewisem a Pontecorvem.“ (Chovnick, Fox 1953, s. 1042)

## 8.6. Alternativní (funkční) pojetí pseudoalel

K funkční interpretaci pseudoalelismu můžeme přiřadit především R. Goldschmidta. Ačkoliv se Goldschmidt sám zmiňované konference nezúčastnil, byl na ní hojně citován a uvedení autoři se s jeho závěry konfrontovali. I Goldschmidt se k jejich pracím vyjadřuje a leckdy používá jejich analýz k potvrzení správnosti vlastních závěrů. (Goldschmidt 1950, s. 366) Goldschmidt vidí ve shlucích podobně působících pseudoalel změněné lokusy v určitém úseku chromozomu, který má celý něco do činění s vývojem normálního fenotypu. Pseudoalely pro něj neexistují, vyzdvihuje chromozom jako funkční jednotku a distancuje se od rozšířené představy, že jsou pseudoalely duplikacemi původního lokusu. Odmítá především názor, že opakované úseky mohou nabýt zcela jiné funkce, než měl původní gen. Podle Goldschmidta je tento závěr v rozporu se základními principy genetiky, podle nichž se vždy gen reprodukuje věrně, vyjma okamžiku, kdy mutuje. Mutantní gen se svým působením liší od původního genu – stává se další alelou toho genu, ale vždy ovlivňuje tentýž proces. Prý dosud nebylo zaznamenáno, že by gen mutoval za různých okolností do různých podob, vždy šlo jen o různou míru určitého projevu.

Někteří genetici (například J. R. Laughnan) pokládají Goldschmidtův (funkční) přístup k pseudoalelismu za jednodušší, neboť nevyžaduje předpokládat dodatečné jednotky a interakce mezi nimi. Laughnan se podivuje, že Goldschmidt jeho oddanost představě nelokalizovaných determinantů nepřivedla k závěru, že je pseudoalelismus běžný úkaz. Zároveň upozorňuje, že jednoduchost lze upřednostnit jen tehdy, když příslušný model

---

z hlediska antigenního působení je lokus  $Iz^g$  částečně odvozen z lokusu  $Iz^{BS}$  a  $Iz^{46}$ .

souhlasí se všemi fakty. Goldschmidt však podle něj ignoruje důkazy o významu duplikací chromozomálních úseků v pseudoalelismu. (Laughnan 1955, s. 92) Sám Laughnan se u kukuřice na alele  $A^b$  snaží ukázat, že je tato alela složená z komponent oddělitelných *crossing-overem* a že skutečně jde o duplikace. (Protože cytogenetické důkazy prokazující tuto duplikaci chybí, snaží se Laughnan ukázat alespoň částečnou schopnost vytvářet synaptický spoj mezi těmito komponentami, která by jejich společný původ doložila.)<sup>146</sup>

Výše popsané názory hlavních aktérů gainesvillské konference dokládají určitou nejednotnost v interpretaci pseudoalelismu: E. B. Lewis a G. Green reprezentují jeden možný pohled, který uchovává klasicky vymezený gen. Na pseudoalely pohlíží jako na samostatné geny, které jsou součástí komplexnějšího celku. Každý gen je pro ně dílčí jednotka, které přiřazují kontrolu jedné dílčí reakce. Pseudoalelismus chápou jako důsledek interakcí genových produktů.

K odlišným závěrům dochází ve své práci J. R. Laughnan. Říká, že nemá cenu trvat na původní koncepci genu, poukazuje-li studium pseudoalelismu ke komplexnosti genu. Na rozdíl od Lewise a Greena považuje pseudoalely za součásti mnohem složitějšího celku a právě tento komplexnější celek (nikoliv jednotlivou pseudoalelu) nazývá genem.

Navzdory rozdílnému pohledu na komplexnost genu (gen jako jednotlivá pseudoalela, resp. jako celek zahrnující několik pseudoalel) se však tyto názory v zásadní věci shodují: Existence pseudoalel nevede k rezignaci na gen jako takový. V tomto smyslu můžeme říci, že představují „většinový“ pohled na pseudoalelismus. Oproti tomu výklad pseudoalelismu, který zastává R. Goldschmidt, poukazuje na jeho neslučitelnost s klasickým pojetím genu a Goldschmidt gen výslovně zavrhuje.

## 8.7. Goldschmidtovy názory na gen

V listopadu 1937 přednesl na Kalifornské univerzitě R. Goldschmidt řeč na téma „teorie genu“. Předem posluchače upozornil, že nenaplní obvyklá očekávání: Nebude zmiňovat pokusy, které vedly ke koncepci genu jako dědičné jednotky, ani případné námitky proti ní,

---

<sup>146</sup> Laughnan také dokumentuje případy, kdy jednotliví členové alelické řady vytvářejí produkty lišící se nejen kvantitativně. Říká, že se obvykle předpokládá strukturální jednoduchost genu, a proto se tento jev vysvětluje složitými argumenty na úrovni funkce genu. (Například že má jedna alela dvě různé možnosti, jak působit.) Laughnan soudí, že by asi bylo přijatelnější revidovat naše pojetí genu a připsat tyto zvláštní případy komplexní struktury genu. (Laughnan 1955, s. 95)

nebude se snažit přiblížit povahu genu ani problematiku jeho působení ve vývoji.

*„What we intend to discuss is not the existing classic theory of the gene, but the reasons why we believe that this classic theory is no longer tenable and has to be superseded by something else.“*

*„Nechceme diskutovat o stávající klasické teorii genu, nýbrž o důvodech, které nás vedou k názoru, že je klasická teorie genu neudržitelná a musí být nahrazena něčím jiným.“ (Goldschmidt 1938, s. 268)*

První problém, který naznačil potřebu přehodnotit teorii genu, je podle Goldschmidta **poziční efekt**. O něm prvně hovoří A. Sturtevant v souvislosti s tím, že dva *Bar* geny ovlivňující utváření oka u octomilky se chovají jinak, jsou-li v pozici na jednom chromozomu, a jinak, jsou-li na homologních chromozomech. Označení poziční efekt podle Goldschmidta jasně ukazuje, že působení genu je ovlivněno jeho pozicí. Vyvozuje z toho, že nejen lokus nebo gen, ale také celý chromozom je zásadní pro působení toho, co se tradičně označuje jako gen. Goldschmidt poukazuje, že poziční efekt byl interpretován tak, že část aktivity příslušného genu se odehrává v blízkosti jeho lokusu, kde jsou produkty jeho činnosti nejkoncentrovanější. Je-li tento gen přenesen na jiný lokus, jeho produkty interagují nejprve s produkty nově sousedících genů, a mají tudíž odlišný účinek. (Goldschmidt 1938, s. 269–270)<sup>147</sup>

Goldschmidt připouští, že toto vysvětlení dokáže teorii genu vcelku dobře uchránit. Adekvátnější mu ale přijde uvědomit si neodlišitelnost mutace a pozičního efektu<sup>148</sup> (jakákoliv změna na určitém lokusu nebo v jeho blízkosti – například inserce, inverze nebo delece – vyvolává fenotyp, který odpovídá fenotypu podmíněnému mutací daného genu) a odmítnout gen.<sup>149</sup>

---

<sup>147</sup> Představu, že u pozičního efektu jde o reakci chemických produktů dvou sousedních genů, odmítá H. J. Muller. Poziční efekt vysvětluje tak, že nejspíš dochází ke změně tvaru genu. (Muller 1947, s. 27)

<sup>148</sup> Mutace a poziční efekt byly neodlišitelné proto, že se na geny v této době usuzovalo jen z jejich projevů.

<sup>149</sup> Goldschmidt mutace považuje za důsledek dřívějších poměrů v chromozomu. Nejde podle něj o chemické změny genové molekuly, ale o mechanickou událost, pravděpodobně zlom. (Goldschmidt 1944, s. 298) Ve svých tvrzeních se opírá hlavně o výsledky M. Kodaniho. (Kodani studoval obří, tzv. polytenní chromozomy ze slinných žláz larev octomilky. Tyto chromozomy jsou nápadně proužkované a strukturu těchto proužků Kodani popisoval. Právě díky těmto proužkům byla viditelná přeuspořádání, k nimž v chromozomu došlo.) Kodani, M. Spontaneous chromatin arrangements and the theory of the gene. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1932, 23: 621–623. Kodani, M. The Structure of Salivary Gland Chromosomes of *Drosophila melanogaster*. *Jour. Hered.*, 1942, 33: 114–133. Goldschmidt, R., Kodani, M. The Structure of the Salivary Gland Chromosomes and Its Meaning. *The American Naturalist*, 1942, 76: 529–551.

*„Anything happening at the Bar-locus may produce Bar-effect. This change then acts in the language of classic genetics like a multiple allele of the respective mutant. It is obvious that it is very difficult in such a case to distinguish between a position effect and a gene mutation. The only difference is that in one case we know that the phenotypic effect is produced by a rearrangement of chromosome material; in the other case we do not know this yet. The suspicion is strong that the gene mutation at the locus in question is also the result of a rearrangement, maybe one which is difficult to make visible cytologically on account of its involving only a very small chromosome section ... No genes are existing but only points, loci, in a chromosome which have to be arranged in a proper order or pattern to control normal development. Any change in this order may change some detail of development, and this is what we call a mutation. We might of course call a change of arrangement at a locus, a gene. But then there are no genes in the normal chromosome, and the mutant gene has no wild type allele, as the whole wild type chromosome is the allele for all mutant genes in the chromosome. Better, then, give up the conception of the gene except for simple descriptive purposes.“*

„Cokoliv, co se přihodí na *Bar*-lokusu, způsobí *Bar*-efekt. Tato změna je potom v jazyce klasické genetiky mnohočetnou alelou daného mutanta. Je zřejmé, že je v takové situaci velmi obtížné odlišit poziční efekt od mutace. Jediný rozdíl je ten, že v jednom případě víme, že se fenotypová změna udála přeuspořádáním materiálu chromozomů, zatímco v druhém případě to ještě nevíme. Máme silné podezření, že genová mutace na daném lokusu je také výsledkem přeuspořádání, byť obtížně cytologicky prokazatelného, poněvadž se dotýká velmi malého úseku chromozomu ... Neexistují geny, nýbrž jen místa, lokusy na chromozomu, které musejí být uspořádány určitým způsobem, aby mohl být zajištěn normální vývoj. Jakákoliv změna tohoto pořadí může změnit nějakou drobnost ve vývoji a tomu my říkáme mutace. Můžeme také samozřejmě změnu uspořádání na lokusu označit za gen. Ale pak nejsou v normálním chromozomu žádné geny a mutantní gen nemá žádnou normální (divokou) alelu, nýbrž divoký typ chromozomu je jako celek alelou pro všechny mutantní geny na chromozomu. Poté je lepší opustit koncepci genu, kromě za účelem jednoduchosti popisu.“ (Goldschmidt 1938, s. 270–271)

Oporu pro svůj postoj vidí Goldschmidt i v případech, kdy je možné vytvořit mutanty tak jednoduchými prostředky, jako je působení teplotních šoků na určitá vývojová stadia larev. Mohou-li vnější činitelé změnit vývoj obdobně, jako ho mění narušení pořadí na chromozomech, poukazuje to na relativně jednoduchou odchylku od normálu, kterou to změněné pořadí vyvolává. Goldschmidt se domnívá, že by tato odchylka mohla odpovídat změně v rychlosti některého vývojového procesu. (Goldschmidt 1938, s. 271)

Svůj pohled na pseudoalelismus si Goldschmidt udržel po celá 40. léta. V roce 1950 rozebírá případ se třemi alelami *lozenge* (a, b, c), kterému se věnoval především G. Green. Podle mendelovské dědičnosti by sestavy *a+c/+b+*, *ab+/++c*, *abc/+++* měly všechny vyvolat normální fenotyp. Ve skutečnosti jej vykazují jen poslední kombinace (*abc/+++*), Green proto o a, b, c hovoří jako o pseudoalelách a předpokládá, že jsou-li dvě pseudoalely odděleny od třetí, jak tomu je v prvních dvou případech, projevuje se poziční efekt. Goldschmidt se domnívá, že popsané skutečnosti dobře zapadají do jiného představy.

*„The real genetical units of the chromosome are sections of different size, containing a number of bands in the salivary chromosomes, the maximum of which is not yet known. These units are characterized by the fact*

„Skutečné genetické jednotky jsou segmenty chromozomu různé velikosti (obsahující několik proužků polytenních chromozomů), jejichž nejvyšší počet není dosud znám. Tyto jednotky můžeme charakterizovat tím, že cokoliv se přihodí v tomto

*that whatever happens within this section produces a mutant effect of the same kind and that all these effects behave as multiple alleles. ... If we should try to account for these facts by means of the classical theory of the gene, the whole section should be the gene because all changes within it are allelomorphic. The individual bands and their invisible mutations would become subgenes. But the position effects would also be subgenes. In addition, crossing over within the section seems possible. This is very unsatisfactory and the conclusion is obvious that at this level the classical theory of the gene does not work.*“

segmentu, vyvolá mutantní projev stejného typu, a že všechny tyto mutantní projevy se chovají jako mnohočetné alely ... Když se budeme snažit vysvětlit tato fakta pomocí klasické teorie genu, pak celý segment by měl být genem, neboť všechny změny v něm jsou alelomorfny. Jednotlivé proužky a jejich neviditelné mutace by byly subgeny. Ale i poziční efekty by odpovídaly subgenům. Navíc se zdá, že je v daném segmentu možný *crossing-over*. To je dost neuspokojivé a je zřejmé, že na této úrovni klasická teorie genu nefunguje.“ (Goldschmidt 1950, s. 366–367)

Podle Goldschmidta není nutné se ohánět „mystickým celkem“.<sup>150</sup> Vysvětlení může poskytnout – prozatím poněkud spekulativní – chemický model. Autorkou tohoto modelu byla D. Wrinchová<sup>151</sup>, uznávaná matematicka, dobře obeznámená s rentgenovou krystalografií. Model vycházel z poznatku, že chromatin tvoří nukleová kyselina a proteiny.

*„The chromosome is conceived as a micellar combination of long chains made up of different polypeptids and held together by nuclear acids. The bonds between the different polypeptids are breakage points and anything between two bonds would constitute a gene.“*

*„Chromozom je pojatý jako micelární kombinace dlouhých řetězců sestavených z různých polypeptidů a držených pohromadě nukleovými kyselinami. Vazba mezi různými polypeptidy je místem zlomů a cokoliv mezi dvěma vazbami představuje gen.“* (Goldschmidt 1938, s. 271)

Goldschmidt se odvolává i na podobnou práci významného biochemika M. Bergmanna<sup>152</sup>, který se zabýval strukturou proteinů.

*„The protein molecule is known to consist of a chain of amino acid residues linked by peptide bonds. According to Bergmann these residues are arranged in a simple order. Each amino acid has its own rhythm different from that of the others, and the superposition of all these rhythms produces the pattern of the molecule. The rhythm itself, meaning that one type of residue appears always separated by a definite number of*

*„O proteinech je známo, že sestávají z aminokyselinových zbytků spojených peptidovou vazbou. Podle Bergmanna jsou tyto zbytky seřazeny za sebou. Každá aminokyselina vykazuje vlastní rytmus, který se liší od rytmu ostatních aminokyselin, a navrstvení všech jejich rytmů přes sebe vytváří výsledné uspořádání celé molekuly. Rytmus sám o sobě znamená to, že jeden typ zbytku je vždy oddělen od ostatních určitým počtem.“*

<sup>150</sup> Nad Goldschmidtovou nelibostí, s jakou hovoří o „mystickém celku“, se pozastavuje S. Stephens (1955).

Domnívá se, že by tento pohled měl být Goldschmidtovi blízký. Když jej rozvedeme, vyplyne z něj, že vlastnosti chromozomu či jeho úseku jsou dány spíš uspořádáním celku než sumou jeho dílčích složek. A hovoříme-li o uspořádání, musíme mít i části, které jej tvoří: Proč jim i nadále neříkat geny, ptá se Stephens.

<sup>151</sup> Wrinch, D. M. The Pattern of Proteins. *Nature*, 1936, 137 (3462): 411–412.

<sup>152</sup> Bergmann, M., C. Niemann, C. On blood fibrin, a contribution to the problem of protein structure. *J. Biol. Chem.*, 1936, 115: 77–85.

V souvislosti s touto teorií je vhodné upozornit, že ve 30. letech bylo známo pořadí aminokyselin jen u několika málo proteinů. Navíc dostupné experimentální údaje bývaly relativně nepřesné a týkaly se jen některých typů proteinů. Tyto okolnosti mohly podněcovat snahu najít mezi známými daty jednoduché, třeba matematicky popsatelné vztahy.<sup>154</sup>

## 8.8. Pseudoalelismus očima statické a dynamické „filosofie“

V srpnu roku 1953 se Goldschmidt pokusil v úvodním proslovu na devátém mezinárodním genetickém kongresu v Bellaggiu shrnout rozdíly, které odlišovaly jeho postoj ke genu od stanoviska jeho oponentů. Ve své vědecké kariéře se stal pochopitelně mnohokrát svědkem toho, jak ze stejných faktů vyvozovali různí vědci různé závěry, a nad pseudoalelismem si uvědomil dva zásadně odlišné přístupy ke genetickým faktům. Hovoří o nich jako o filosofiích, jednu označuje za statickou (statistickou), druhou za fyziologickou (dynamickou).

*„The statistical basic philosophy tries to interpret every generalized set of facts by the introduction of more and more units for statistical treatment. ... This statistical thinking tries to explain all basic features of genetic phenomena by introducing more genes in the form of modifier systems built up by selection.“*

*„Statisticky založená filosofie se snaží interpretovat všechna zobecněná data zaváděním nových a nových jednotek pro statistické nakládání s nimi ... Statistický způsob uvažování vysvětluje základní genetické fenomény zaváděním nových genů v podobě modifikátorů vybudovaných selekcí.“*  
(Goldschmidt 1954, s. 704)

Podle něj tento postoj vede k hyperatomismu a hyperselekcionismu.<sup>155</sup> Dynamický

---

<sup>153</sup> Pro lepší pochopení Bergmannova pohledu můžeme uvést následující příklad: V určitém proteinu bylo zjištěno, že 50 % látkového množství tvoří glycin a 25 % alanin. Tyto údaje interpretuje Bergmann tak, že je glycin každou druhou aminokyselinou a alanin každou čtvrtou. Sekvence glycinu tedy zapisuje jako G-X-G-X-G-X-G-X-G-X-G-X-G-X-G-X, kde X představuje ostatní neznámé aminokyseliny, pořadí alaninu by odpovídalo A-X-X-X-A-X-X-X-A-X-X-X-A-X-X-X. Když obě sekvence zkombinuje v jednom řetězci, dojde k pořadí aminokyselin G-A-G-X-G-A-G-X-G-A-G-X-G-A-G-X. Bergmann upozorňuje, že k uspořádání takovýchto molekul je třeba velká specifičnost, kterou mají proteinázy (samy proteiny). Jejich dlouhé molekuly by prý mohly dokázat syntetizovat a odbourávat proteiny a tvořit svoje vlastní repliky.

<sup>154</sup> Oporu pro svoji teorii hledal Bergmann v datech o hemoglobinu a keratinu a svoje závěry nakonec rozšířil o tvrzení, že každý protein obsahuje 288 zbytků nebo celý násobek tohoto čísla. Jak ukazuje I. M. Klotz, číslo 288 si v biochemii proteinů získalo prominentní postavení podobné číslu 137 v astrofyzice. (Klotz 1995, s. 48)

<sup>155</sup> Pod hyperselekcionismem míní Goldschmidt to, že je za každou skutečností spatřována selekce. Říká, že toto přesvědčení v posledku vede k hyperatomismu, tedy vynalézání dalších a dalších modifikátorových systémů, na



přístup se naproti tomu snaží pochopit jevy pomocí genového působení a vývojových systémů se vším, co je provází, – s interakcemi, embryologickou regulací a integrací. Respektuje statistické principy genetiky, ale snaží se (podle principu úspornosti) obejít se bez předpokladu dodatečných jednotek. (Goldschmidt 1954, s. 704) Tento přístup se prý hlásí o slovo od 40. let.

*It tries to replace the statistical, atomistic views of classic genetics by a dynamic, relational view which sees in the chromosome a hierarchical system..., the parts of which may function in different subunits of hierarchical order.*

„Snaží se nahradit statistický, atomistický pohled klasické genetiky dynamickým, relačním přístupem, který v chromozomu spatřuje hierarchický systém..., jehož části mohou fungovat na různých hierarchických úrovních.“ (Goldschmidt 1954, s. 707)

Pseudoalelismus Goldschmidt používá k ozřejmění rozdílu mezi statickým a dynamickým vysvětlením. Zmiňuje případ, kdy v regionu *scute* na chromozomu octomilky dochází při různých zlomech ke vzniku fenotypu *scute*. (Studium regionu *scute* podrobněji rozebírala kapitola o subgenové hypotéze.) Jednotliví mutanti se od sebe liší jen málo a představují skupinu mnohočetných alel. Jak vysvětlí tento jev klasická genetika, resp. „statistická filosofie“?

*„This explanation is based upon one partial fact not yet mentioned, namely, that crossover breaks can occur within such a segment with the result that what were considered before two or three alleles now become separable genetic units and are, therefore, called different genes. But in spite of this the two actions remain allelic. This means that, if each of a pair of chromosomes contains at least one of the recessive mutant loci, we get the homozygous phenotype. In order to explain this basic fact, it is assumed that the two or three and in some cases many loci that can be separated by crossover breaks are duplications, triplications, and so on, of one original gene. After duplication, the new gene assumed a somewhat different function of the type of a multiple-allelic difference. But its faculty of being allelic remained, but only if the old and the duplicated genes are located in different homologous chromosomes. Therefore, the phenomenon is called pseudo-allelism and the alleles, position alleles ... The duplicated genes might, in time, become so different that they no longer affect the same character and lose their allelism.“*

„Její vysvětlení vychází z dosud neuváděné skutečnosti, že v rámci tohoto segmentu chromozomu může docházet ke zlomům spojeným s *crossing-overem*, přičemž z toho, co jsme předtím považovali za dvě nebo tři alely, se stanou oddělitelné genetické jednotky označované za různé geny. Navzdory tomu však jejich působení zůstává alelické. To znamená, že nese-li každý z páru chromozomů alespoň jeden recesivní mutantní lokus, získáme homozygotní fenotyp. Abychom tuto skutečnost vysvětlili, předpokládáme, že ty dva nebo tři, v některých případech i více lokusů, které se dají oddělit *crossing-overem*, jsou duplikace či trojnásobná zmnožení jednoho původního genu. Po duplikaci získal nový gen trochu jinou funkci odpovídající typově rozdílům mezi mnohočetnými alelami. Alelický vztah vůči původní alele zůstal, ale to jen tehdy, když byly nový a starý gen umístěny na různých homologních chromozomech. Proto se tomu jevu říká pseudoalelismus a alelám poziční alely ... Duplikované geny se mohou v průběhu času natolik rozrůznit, že už neovlivňují stejný znak, ztrácí se i jejich alelismus.“ (Goldschmidt 1954, s. 709)

---

něž ta selekce působí. Takto přístup sice umožňuje výborné matematické uchopení, ale přehlíží fakt, že v základu evoluce stojí organismus. (Goldschmidt 1954, s. 707)

Goldschmidt nabízí alternativní (dynamické) vysvětlení pseudoalelismu, které vymezuje genetickou jednotku jinak. Její hranice totiž nespátřuje v místě, kde dojde ke *crossing-overu*, místo toho vyzdvihuje hierarchické uspořádání chromozomu, v němž jsou nižší jednotky dále integrovány v jednotky vyšší.

*„The whole segment is in control of one chain of reactions which will be interfered with in a similar way by whatever change happens within the segment, producing always, for example, a scute or yellow effect. But here a quantitative element enters: if the segment is taken apart by a rearrangement break or organized in a different order after a crossover break, the chain of reactions still of the same type – for example, leading to yellow pigment – is affected quantitatively to produce the slightly different phenotypes of the yellow alleles. Thus, crossing over, a purely mechanical feature happening wherever the breakable parts of the chromosome are found, does not enter the definition of the basic unit. It may also happen within it.“*

„Celý segment řídí jeden řetězec reakcí, do něhož zasahují stejným způsobem jakékoliv změny, které se na tom úseku přihodí a které vždy vytvoří příslušný projev (například *scute* nebo *yellow*). Ale do hry zde vstupuje kvantitativní prvek. Když je příslušný úsek rozdělen zlomem nebo se po zlomu při *crossing-overu* jinak uspořádá, je uvažovaný řetězec reakcí (vedoucí například k žlutému barvivu) kvantitativně ovlivněn, což vyústí v trochu jiný fenotypový projev žluté alely. Takže *crossing-over* coby čistě mechanická záležitost, která může nastat na kterémkoliv místě chromozomu umožňujícím zlom, nevystupuje v definici té základní jednotky. Ke *crossing-overu* může dojít i v rámci ní.“ (Goldschmidt 1954, s. 709)

Goldschmidt postupuje ještě dál a píše, že když se tyto úseky se základní působností integrují na vyšší hierarchické úrovni, opět kontrolují jako jedna jednotka. Tak se můžeme dostat až na úroveň chromozomu jako nejvyšší jednotky a můžeme zcela zapomenout na gen.<sup>156</sup> Podle Goldschmidta je pro živý svět zcela zásadní právě toto hierarchické uspořádání.

## 8.9. Význam pseudoalelismu

Zatímco v očích klasické genetiky byl lokus místo obsazené genem, který se vyskytuje v podobě různých alel, výzkumy 40. a 50. let ukazovaly, jako by lokus čítal mnoho genů ve vazbě, které na daném znaku spolupracovaly. (V diploidním stavu sice nesl jedinec od daného genu pouze dvě alely, tento gen byl ale zároveň ve vazbě s různými alelami jiných genů, které byly vzhledem k němu tzv. pseudoalelické.) Studium tohoto jevu – pseudoalelismu – bylo významné z několika důvodů:

Zkoumání pseudoalel upozornilo na různorodá kritéria, která genetické používají k vymezení genu. V různých situacích bývaly geny považovány buď za části chromozomu,

---

<sup>156</sup> Přesvědčení, že geny nemají hranice a že je třeba připsat stěžejní význam pozičnímu efektu, nalezneme později v úvahách F. Jacoba, který hovoří o tzv. genetickém programu. (Jacob, F. La Logique du vivant. Une histoire de l'hérédité. Gallimard, Paris, 1970.)

v rámci nichž nedochází ke *crossing-overu* nebo ke zlomům chromozomu, nebo za části chromozomu schopné sebereprodukce, nebo za jednotky, jejichž změna se projeví změnou funkcí. Fenomén pseudoalelismu zproblematizoval vymezování hranic genu pomocí *crossing-overu*, ukázal, že struktury rozlišitelné na chromozomu nemusí jednoduše odpovídat genovým funkcím. Geny mohou sestávat z lineárně uspořádaných částí, které se při zlomu od sebe oddělují a přitom neztrácejí schopnost reprodukce. Slovo gen se pak mohlo vztahovat buď k těmto částem (které skládají větší genový komplex), nebo k širšímu celku (ve kterém rozlišíme jednotlivé části, nazývané například subgeny). (Raffel, Muller 1940, s. 570)

Pseudoalelismus vyvolal potřebu změnit terminologii tak, aby odpovídala novým poznatkům. Například S. Wright doporučuje používat slovo lokus pro systém mnohočetných alel (jakkoliv komplexních), u nichž dosud nebyl pozorován žádný zlom. Pokud byl v systému mnohočetných alel zlom zaznamenán, nabízejí se dvě možnosti: Můžeme hovořit o jednom lokusu s oddělitelnými sublokusy nebo můžeme mluvit o superlokusu složeném z dílčích lokusů. Termín pseudoalelismus by se podle Wrighta měl omezit na vztah mezi dílčími lokusy v rámci superlokusu, slovo „alelický“ by se mohlo používat ve dvou podobách:

„One might use *euallelic* for strict *allelism* as far as known, and thus *aneuallelic* where there is very rare *crossing-over* within what seems most convenient to recognize as a locus.“

„Pro označení striktního alelismu můžeme používat označení ‚eualelický‘ a označení ‚aneualelický‘ pro případy, kdy zřídka dochází ke *crossing-overu* v úseku, který je přesto vhodné nazývat lokusem.“ (Wright 1959, s. 964)

Obdobnou terminologickou úpravu navrhl M. Demerec<sup>157</sup>, který hovoří o identických a neidentických alelách. (Tyto názvy Wright odmítá, poněvadž ani skutečné alely nemusejí být nutně fyziologicky identické.) Další pokus o úpravu terminologie pochází od H. Romana<sup>158</sup>, který zavádí pojem homoalela a heteroalela. (Jak už bylo v této kapitole uvedeno, přejímá tuto terminologii E. B. Lewis.)

Studium pseudoalelismu také povzbudilo úvahy o evoluci genů. Evolučním aspektům se věnuje S. Wright (1959). V genomových oblastech, které si jsou podobné a které jsou odděleny hranicemi z „cizorodých“ úseků (ať už na ně pohlížíme jako na shluky genů či na jakýsi velký supergen), spatřuje opakované duplikace. Předpokládá, že vznikly díky nerovnému *crossing-overu*, následně se rozrůznily, přičemž mezi ně mohl být vložen jiný

<sup>157</sup> Demerec, M. A Comparative Study of Certain Gene Loci in *Salmonella*. In *Genetic Mechanisms: Structure and Function*, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology (21), Cold Spring Harbor, 1956, 113–121.

<sup>158</sup> Roman, H. Studies of Gene Mutation in *Saccharomyces*. In *Genetic Mechanisms: Structure and Function*, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology (21), Cold Spring Harbor, 1956, 175–185.

materiál. (Wright 1959, s. 963)<sup>159</sup> Wright uvažuje, že by v evoluci mělo být výhodnější, aby *crossing-over* nastával v těch místech, ve kterých nenaruší „fyziologický gen“. Představuje si, že fyziologicky významné úseky DNA oddělují inertní části, a přemýšlí o evolučním mechanismu, který by bránil narušení „užitečných“ sekvencí nukleotidů *crossing-overem*.<sup>160</sup>

Výzkum pseudoalel také zdůraznil význam uspořádání genů na chromozomu. Pseudoalelismus byl mnohdy chápán jako poziční efekt, k němuž dochází v rámci genu, a fungování genů se chápalo jako interakce mezi jednotlivými genovými částmi. (Strauss 1955) Jak ukázala předchozí část, roli okolí určitého genu a jeho zapojenost do širšího systému chromozomu obzvlášť vyzdvihuje R. Goldschmidt. Hranice genu neodvozuje od možného *crossing-overu*, za fenotyp spojovaný s určitým genem je podle něj zodpovědný širší segment chromozomu, resp. celý chromozom. Pseudoalelismus ukazuje, že fyziologický gen je větší úsek chromozomu než jednotka mutace či rekombinace.

Čím přísněji se uplatňuje částicový gen při vysvětlování pseudoalelismu, tím méně důležité jsou vlastnosti genu jako takového a na důležitosti nabývají prostorové vztahy s jeho sousedy. Jak říká S. Stephens (1955), čím větší je stupeň organizace, tím méně důležité jsou vlastnosti stavebního materiálu a tím důležitější je způsob, jakým je ten materiál uspořádán.

*„One is forced to move away from the concept of autonomous units each with their own unique properties towards the possibility of a system where all the units may be potentially similar but where unique properties may or may not develop according to the spatial relationships of the position they happen to occupy.“*

*„Jsme nuceni opustit představu autonomních jednotek s jejich jedinečnými vlastnostmi a přesunout se k možnému systému, ve kterém všechny jednotky mohou být potenciálně stejné a kde se jejich jedinečné vlastnosti mohou, ale nemusejí vyvinout v závislosti na prostorových vztazích pozice, kterou zaujímají.“ (Stephens 1955, s. 118)*

---

<sup>159</sup> S. Stephens předpokládá, že duplikace genu vede ke změně ve vztahu genu a substrátu. Je-li tato změna malá, nabízejí se dvě různé hypotézy: Buď dceřiné geny využívají substrát k tvorbě lehce pozměněných produktů, nebo dceřiné geny vytvářejí produkt pro další geny a jde o sekvenční systém. V dceřiných genech představujících vzájemně závislé stupně ve společné syntetické dráze je navíc možné spatřovat jakýsi posun v organizaci.

<sup>160</sup> Představa, že mezi geny existují negenové oblasti, není novinkou 50. let. Objevila se už ve 30. letech u J. Bellinga, kterému pomáhala vypořádat se s vysvětlením *crossing-overu*. Problematicnost *crossing-overu* spočívala v tom, že výměna genetického materiálu mezi dvěma chromatidami nastávala na obou chromatidách přesně ve stejném místě. Belling tento předpoklad, který se zdál obtížně splnitelný, obešel tak, že mezi geny uvažoval úseky negenového materiálu o nezanedbatelné velikosti. Pokud v Bellingových genech vidíme duplikované, fyziologicky aktivní oblasti, které jsou oddělené neduplikovanými, fyziologicky inertními oblastmi (Bellingovým intergenovým materiálem), jde o obdobu Wrightovy představy. (Belling, J. Crossing Over and Gene Rearrangement in Flowering Plants. *Genetics*, 1933, 18: 388–413.)

Výzkum pseudoalelismu vede Stephense k opuštění nedostačujících morfologických modelů genu a k hledání chemického modelu. Připomíná:

*„...linear pattern involving what appear to be rhythmic alterations of repeated chemical sequences. If the properties and structure of the chromosomes can be fitted into this model, then the properties and structure of genes will have to be fitted in also. At the most elementary level we should expect that the organization of genes in the chromosome would have the general properties of the components of an organic chemical chain.“*

„...lineární uspořádání, které zahrnuje cosi, co vypadá jako rytmické střídání opakovaných chemických sekvencí. Pakliže mohou být vlastnosti a struktura chromozomu vtěsnány do tohoto modelu, musejí tomu vyhovovat také vlastnosti a struktura genů. Na té nejzákladnější úrovni bychom měli očekávat, že organizace genů na chromozomu bude vykazovat ty nejobecnější vlastnosti složek organického chemického řetězce.“ (Stephens 1955, s. 120–121)

Prozatím se mu zdá přijatelné vyrukovat s analogiemi, byť jen formálními. (Uvádí například schopnost chemických řetězců tvořit izomery, což je důsledek repetice v jejich sekvenci. Tyto izomery očekává i v genetickém řetězci, je možné, že je nacházíme právě v podobě pseudoalel.) Je tedy zřejmé, že pseudoalelismus přispěl ke ztotožnění struktury chromozomu a genu.

Klasická genetika pohlížela na gen jako na „mocný atom“, který postulovala na základě štěpných poměrů získaných při křížení. S výzkumem pseudoalelismu přestává být gen tímto atomem, stává se složitou molekulární strukturou, která je dělitelná. Pseudoalelismus ukazuje, že se v genu dají nalézt vnitřní hranice a že gen přesahuje za své dříve uznávané vnější hranice, které se tímto stávají nejasnými. Dělitelnost s sebou přináší představu součástí, které mohou být různě sestavené, resp. uspořádané. Přesvědčení, že je uspořádání těchto částí lineární, potvrzovaly Benzerovy studie. Goldschmidtem obhajované funkční pojetí pseudoalel zdůraznilo význam změny místa těchto součástí. V tomto smyslu můžeme jeho výklad pseudoalel chápat jako přechod ke genu pochopenému jako text. (Jde o představu blízkou chemickému smýšlení, uvážíme-li, že rozmanité molekuly se od sebe liší různým uspořádáním poměrně malého počtu základních součástí – atomů.) Zkoumání pseudoalelismu ukázalo cestu k molekulárně genetickému uvažování.

## 9. Specifičnost a templát očima imunologie a genetiky

Od obecných tvrzení o tom, že geny působí prostřednictvím enzymů (což popisovala druhá kapitola), se během klasické genetiky přesunula pozornost k otázce, *jaký* je vztah mezi genem a enzymem, resp. později ve 40. letech, *jak* řídí gen tvorbu patřičného enzymu. K těmto otázkám velmi přispěla imunologie. Dokládá to velké množství konferencí a přednášek ze 40. let, které se věnují imunologickým představám využitelným v různých disciplínách.<sup>161</sup> Tato kapitola zachycuje „analogové“ uvažování o genech a jejich působení, které zdůrazňuje prostorové zformování molekul. Jde o myšlení blízké nejen imunologii, ale také enzymologii, což popisovala předchozí kapitola. Následující oddíl se zaměřuje na dva pojmy: templát, který se uplatnil při vysvětlování proteosyntézy, a specifičnost, která je významná jak pro imunologii (v podobě specifických receptorů), tak pro genetiku (představa specifických genů).

Imunologie sdílí s biologickými obory některé společné otázky. Například M. R. Irwin (1949) upozorňuje na paralelu mezi imunologickým problémem, jak se při imunizaci mění globuliny v krevním séru a jak se tato změna udržuje, a otázkou, jak se reprodukuje gen.<sup>162</sup> Rámec pro vysvětlování množení genu poskytla představa templátu, pomocí které imunologové vysvětlovali vznik specifických protilátek. (Irwin 1949, s. 109) Irwin mj. zavedl pojem **imunogenetika**, kterým označoval výzkum genetického základu imunity.<sup>163</sup>

Využit spojitosti mezi problémy obecné biologie a problémy imunologie se snažil již na

---

<sup>161</sup> Tato kapitola vychází především z příspěvků z konference pořádané Americkou genetickou společností v roce 1942 a ze symposia na téma „*On Immunology in Biological Research*“ konaného roku 1948 ve Washingtonu, D. C.

<sup>162</sup> Chápání genů jako proteinů souviselo s předpokládanou nedostatečnou rozmanitostí nukleových kyselin, která vyplývala z tetranukleotidové hypotézy. (Podle autora tetranukleotidové hypotézy P. Levene, objevitele ribózy a deoxyribózy, sestávají nukleové kyseliny z opakujících se čtveřic nukleotidů.) Dalším argumentem pro proteinovou povahu genů byla skutečnost, že geny vykazovaly vlastnosti známé od enzymů – proteinů. (Šlo o specifičnost jejich působení, závislost tohoto působení na podmínkách prostředí či předpokládanou složitost enzymů i genů. Tohoto tématu se dotýkala druhá kapitola.)

<sup>163</sup> V rámci imunogenetiky se Irwin věnoval vztahu genů a antigenů, látek vyvolávajících imunitní odpověď. Vycházel z předpokladu, že buněčné antigeny jsou buď přímé produkty genů, nebo jsou to geny samotné. Ve studiu antigenů viděl možnost, jak poznat geny. (Irwin, M. R., Cole, L. J. Immunogenetic studies of species and of species hybrids in doves, and the separation of species-specific substances in the backcross. *J. Exptl. Zool.*, 1936, 73: 85–108.)

počátku 20. století G. H. F. Nuttall.<sup>164</sup> Jeho cílem bylo zmapovat příbuzenské vztahy mezi organismy sledováním interakce sér (či jednotlivých proteinů z nich izolovaných) s protilátkami, které se vytvoří při injekci tohoto séra do dalšího zvířete. Srovnávání takto vyvozené taxonomické příbuznosti různých živočichů s příbuzností vyvozenou na morfologickém základě prokázalo, že se jejich závěry shodují.

Imunologie ovlivnila i pohled na oplození, které se interpretovalo jako zvláštní forma imunizace. Vnik jedné spermie totiž zabránil průniku dalších spermií, které se okolo vajíčka shlukly (aglutinovaly). F. R. Lillie<sup>165</sup> přičítal tuto aglutinaci spojení fertilizinu, látky z vaječného povrchu, a antifertilizinu, strukturálně komplementární látky z povrchu spermie. Na Lillieho výzkumy navázal ve 40. letech A. Tyler<sup>166</sup>, který fertilizin ztotožňoval s glykoproteinovým obalem vajíčka a antifertilizin pokládal za jakýsi protein. (Tyler 1941) Tyler pod povrchem vajíčka našel látku, která podle jeho soudu mohla odpovídat antifertilizinu. Na základě těchto zjištění začal buňku považovat za mozaiku komplementárních látek, tj. látek schopných se spolu kombinovat jako protilátka s antigenem.

Imunologické představy se také uplatnily ve vysvětlení, jak se spojují chromozomy v synapsi při dělení buněčného jádra. C. C. Lindegren a C. B. Bridges<sup>167</sup> poukázali na podobnost mezi specifickým přitahováním chromozomů v synapsi a interakcí antigenu s protilátkou. (Dva odpovídající si geny na chromozomech chápali jako antigeny, proti nimž se vytváří protilátka. Propojení této protilátky s oběma geny bylo zároveň propojením obou chromozomů.)

Právě kontakt antigenu a příslušné protilátky představuje vedle tvorby protilátek problematiku, jejíž řešení myšlenkově obohatilo genetiku. Proto je nezbytné alespoň krátce přiblížit význam slov antigen a protilátka.

---

<sup>164</sup> Nuttall, G. H. F. *Blood Immunity and Blood Relationship*. The Cambridge University Press, Cambridge, 1904. (V jeho šlépějích pokračovali mj. P. A. Moody, J. G. Baier, A. A. Boyden, H. R. Wolfe či K. S. Chester.)

<sup>165</sup> Lillie, F. R. *Sperm agglutination and fertilization*. *Biol. Bull.*, 1915, 28: 18–33.

<sup>166</sup> Tyler, A. *Specific interacting substances of eggs and sperm*. *Western J. Surg. Obst. Gynec.*, 1942, 50: 126–138. Tyler, A. *An auto-antibody concept of cell structure, growth and differentiation*. *Growth*, 1947, 10: 7–19.

<sup>167</sup> Lindegren, C. C., Bridges, C. B. *Is agglutination an explanation for the occurrence and for the chromomere-to-chromomere specificity of synapsis?* *Science*, 1938, 87: 510–511.

## 9.1. Výchozí představy o antigenech a protilátkách

**Antigen** byl nejčastěji chápán jako látka stimulující imunitní odpověď. (F. Haurowitz 1949)<sup>168</sup> Z chemického hlediska bývaly antigeny považovány nejčastěji za proteiny, řídčeji za sacharidy. (Antigeny hodně zkoumal K. Landsteiner, který na proteinové molekuly napojoval různé malé skupiny a sledoval, jak se změnilo jejich antigenní působení.) Za zásadní vlastnost antigenů se pokládalo to, že sestávají z opakujících se částí. (S touto myšlenkou přišel M. Heidelberger při výzkumu pneumokoka III. typu. Izoloval z této bakterie sacharid, který i po rozštěpení na dvě části reagoval se sérem působícím proti němu.)

*„In order to function fully as an antigen a substance of large molecular size must be of such nature as to allow repetition of certain structural units. Possibly for this reason ordinary lipids do not appear to have a clear-cut antigenic function.“*

„Aby fungovala plně jako antigen, musí mít látka o velké molekulární hmotnosti takovou povahu, která umožňuje opakování strukturálních jednotek. Pravděpodobně z tohoto důvodu nejsou obyčejné lipidy jasně antigenní.“ (Heidelberger 1943, s. 195–196)

Heidelberger však upozorňuje, že ani komplexnost a velikost molekuly není nezbytnou podmínkou. Na protein se totiž může napojit malá molekula, která z proteinu vytvoří funkční antigen.

Genetickému pozadí tvorby antigenů se věnovali mj. T. Sonneborn (na trepcě) a C. Stormont (u hovězího dobytka).<sup>169</sup> Tvorbu antigenů připisovali buď komplexům úzce svázaných genů (kdy každý jednotlivý gen ovlivňoval určitou část antigenního komplexu), nebo mnohočetným alelám (kdy každá alela zodpovídala za vytvoření celého antigenního komplexu). (Irwin 1949, s. 119)

Jako **protilátka** se označovala látka, která se po imunizaci objevila v séru a specificky se spojovala s antigenem. (Eastwood 1933) Na přelomu 19. a 20. století se protilátkám připisovala koloidní povaha, nedařilo se je však izolovat v dostatečně čisté podobě, a jejich chemická podstata proto nebyla známa. Někteří vědci spekulovali, že by protilátky mohly obsahovat fragmenty samotných antigenů.<sup>170</sup> (Jiní to odmítali, protože se stejné se stejným

---

<sup>168</sup> Haurowitz má vůči slovu antigen výhrady. Vadí mu, že název naznačuje, že jde o něco působícího „proti“ genu.

<sup>169</sup> Stormont, C. Linked Genes, Pseudoalleles and Blood Groups. *The American Naturalist*, 1955, 89 (845): 105–116. Sonneborn, T. M. Genes, cytoplasm, and environment in the control of cellular heredity. *Science*, 1948, 107 (2784): 459–459.

<sup>170</sup> Jako jeden z prvních s touto představou přišel E. Buchner. (Buchner E. Über die nähere Natur der bakterientötenden Substanz in Blutserum. *Zentralbl. Bakteriol.*, 1889, 6: 561–572.)



většinou odpuzuje, nikoliv přitahuje.) Ve 30. letech 20. století se objevila představa, že se antigen váže na stěnu krevních vlásečnic, mění její propustnost a ovlivňuje, jaké látky z krevní plazmy mohou přes jejich stěnu uniknout. Podle této teorie představovaly protilátky části plazmy, která se různě intenzivně „přefiltrovala“ přes stěnu vlásečnic. (Eastwood 1933) Objevila se také myšlenka, že jsou protilátky proteiny podobné  $\gamma$  globulinům z krevního séra. Ve 40. letech získal převahu názor L. Paulinga<sup>171</sup>, podle něhož spočívá rozdíl mezi globuliny a protilátkami výhradně ve způsobu stočení peptidového řetězce.

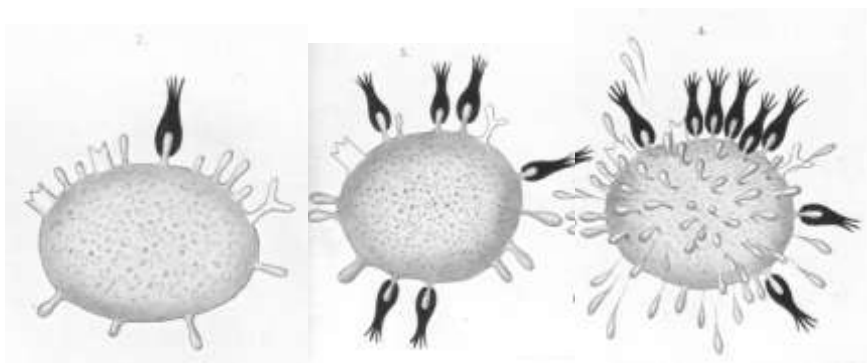
## 9.2. Teorie vzniku protilátek

Jak už bylo naznačeno, inspirovaly genetiku především úvahy o vzniku protilátek. Významné místo mezi nimi zaujímá teorie P. Ehrlicha, známá pod označením *Seitenkettentheorie* (anglicky *side-chain theory*).<sup>172</sup> Ehrlich vysvětloval specifické imunologické reakce tak, že se změnilo množství preformovaných, v těle běžně přítomných látek. O utváření a uvolňování těchto protilátek uvažuje Ehrlich v duchu tzv. receptorové teorie výživy buňky, což zachycuje obrázek 16. Podle této teorie má buňka na svém povrchu skupiny atomů či postranní řetězce, které fungují jako specifické receptory pro určitý typ potravy, kterou buňka potřebuje. Ehrlich předpokládal, že tyto specializované receptory vykazují náhodnou afinitu vůči látkám, které, jsou-li navázané na buňku, působí toxicky. Pokud se tyto látky na receptor napojí, vyvolají jeho odvržení a buňka si následně dotvoří nový receptor. Při opakovaných kontaktech s touto látkou se začne utvářet více receptorů, než kolik jich buňka ztrácí. Některé přebytečné receptory se mohou uvolňovat do krve, aniž se na ně daná látka navázala. Právě tyto receptory pokládá Ehrlich za protilátky. (Ehrlich 1900)

---

<sup>171</sup> Pauling, L. A theory of the structure and process of formation of antibodies. *J. Am. Chem. Soc.*, 1940, 62: 2643–2657.

<sup>172</sup> Ehrlich, P. Side-chain theory. On Immunity with Special Reference to Cell Life. *Proceedings of the Royal Society (London)*, 1900, 66: 424–448. O Ehrlichově teorii píše I. Galdston jako o „stereochemické koncepci biologických procesů.“ (Galdston 1954, s. 395)



Obr. 16 Ehrlichova představa o tvorbě protilátek. Světlé výběžky na buňce představují receptory, tmavé útvary toxické látky, které se na ně napojují. Častější kontakt buněk s těmito toxickými látkami vede k nárůstu počtu receptorů, které se mohou uvolnit i bez navázaného jedu. Protilátky kolující v krvi jsou právě tyto receptory. (Ehrlich 1900, s. 434–435)

V následujících letech Ehrlich svoji teorii podle nových zjištění upravoval. Čelil silné kritice. Například W. H. Manwaring (1927) Ehrlichovi vyčítal, že jeho teorie předpokládá přítomnost malého množství protilátek proti veškerým možným antigenům a připouští jen navýšení tvorby protilátek, které jsou v daném okamžiku potřebné. Manwaring ukazuje, že se při imunizaci tvoří zcela nové proteiny. Tvorbu protilátek připisuje enzymům. Cizorodé látky, které se dostanou do těla, jsou podle něj rozkládány a štěpeny a jejich části následně různě spojovány s normálními složkami buňky. Manwaring uvažuje, že si časné vznikající produkty tohoto slučování nejspíš mohou uchovávat svoji specifičnost, zatímco pozdější produkty mohou být méně specifické či vyloženě nespecifické. (Manwaring 1927, s. 368) Ve 30. a 40. letech 20. století si však vydobýly uznání dvě jiné teorie tvorby protilátek, a to i přes poměrně malé množství experimentálních dokladů. (Campbell, Garvey 1960, s. 23–24)

Jedna z těchto teorií bývá v literatuře nazývána **antigenová – templátová teorie**. (Jerne 1955) Mezi její zastánce patřili mj. F. Breinl, F. Haurowitz, S. Mudd a L. Pauling.<sup>173</sup> Podle této teorie mohou za rozmanitost protilátek změny, k nimž dochází při syntéze globulinu krevního séra, přičemž tyto změny způsobuje průnik antigenu nebo jeho části do místa syntézy globulinu. Teorie předpokládá, že je takto vzniklý globulin schopen při opětovném setkání s tímto antigenem interagovat, a to kvůli jejich komplementární struktuře: Správně stočená část polypeptidového řetězce globulinu umožní přesný kontakt s determinační

<sup>173</sup> Breinl, F., Haurowitz F. Chemische Untersuchung des Präzipitates aus Hämoglobin und Anti-Hämoglobin-Serum und Bemerkungen über die Natur der Antikörper. *Z. Physiol. Chem.*, 1930, 192: 45–57. Mudd, S.

A Hypothetical Mechanism of Antibody Formation. *J. Immunol.*, 1932, 23: 423–427. L. Pauling, L. A Theory of the Structure and Process of Formation of Antibodies. *J. Am. Chem. Soc.*, 1940, 62: 2643–2657.

skupinou antigenu.<sup>174</sup> Protilátka je tedy globulin krevního séra, který je syntetizovaný v bezprostředním prostorovém kontaktu s antigenem. Okamžitě po vytvoření se protilátka z tohoto kontaktu uvolňuje a antigen se může uplatnit při tvorbě dalších molekul.

Kritici antigenové – templátové teorie upozorňují na neodůvodněný předpoklad, že bezprostřední blízkost antigenu u vznikajícího globulinu vytvoří komplementární molekulu. (U proteinu viru tabákové mozaiky byla zaznamenána opačná situace. Protein, který byl syntetizován v kontaktu s jistým způsobem tvarovanou molekulou, vytvořil jeho repliku.<sup>175</sup>) Další pochybnost přinesl výzkum žluté horečky, který ukázal, že tvorba protilátek pokračovala i po vymizení antigenu. (Podle antigenové – templátové teorie se protilátky mohou tvořit pouze v té buňce, ve které je přítomen antigen.) Antigenová – templátová teorie také nedokázala uspokojivě vysvětlit silnější a rychlejší sekundární imunitní odpověď. (Jerne 1955)

M. Burnet a F. Fenner<sup>176</sup> navrhuji alternativní hypotézu, která vychází z podobnosti mezi tvorbou protilátek a adaptivní tvorbou enzymů. Jde o tzv. teorii pozměněných enzymů (*modified-enzyme theory*).<sup>177</sup> (Burnet 1954, s. 191) Burnet se v ní snaží vypořádat s otázkou, jak tělo pozná, co je mu vlastní a co cizí. Poukazuje, že schopnost rozpoznat materiál tělu vlastní není děděná, ale že se jí tělo během embryonálního vývoje učí. (Svědčí o tom tolerance sourozeneckých buněk u dvojvaječných dvojčat dobytka, která spolu byla během nitroděložního vývoje prostřednictvím krevního oběhu v kontaktu.) (Burnet 1954, s. 190) Burnet předpokládá, že buňky retikuloendotelového systému mohou uvolňovat jakési „rozpoznávací jednotky“ (*recognition unit*). Tyto jednotky jsou nejspíš polysacharidy či proteiny a jsou schopné poznat<sup>178</sup> sobě podobné jednotky, které jsou tělu vlastní (tzv. *self-markers*). Jejich vzájemný kontakt probíhá bez tvorby protilátek, pokud však rozpoznávací jednotka narazí na antigen, protilátky se začnou tvořit. (Za antigen Burnet považuje molekulární strukturu, která se sice liší od *self-markerů*, ale zároveň je jim natolik podobná,

---

<sup>174</sup> Determinační skupina je označení pro část antigenu, která je zodpovědná za jeho specifčnost. (Haurowitz 1949)

<sup>175</sup> Stanley, W. M. The reproduction of virus protein. *The American Naturalist*, 1938, 72: 110–123.

<sup>176</sup> Burnet, M., Fenner, F. *The Production of Antibodies*. Macmillan, Melbourne, 1941.

<sup>177</sup> Sám Burnet o ní hovoří jako o „*self-marker theory*“. Burnet je znám jako autor teorie klonální selekce, proslul výzkumem imunologické tolerance. Zde popsané názory, které se týkají konce 40. a počátku 50. let, teorii klonální selekce předcházejí.

<sup>178</sup> Rozpoznáním Burnet myslí existenci komplementárního *pattern* mezi dvěma chemickými sloučeninami. (Burnet 1954, s. 191)

že se může na rozpoznávací jednotky navázat.) Částečná vazba antigenů a rozpoznávacích jednotek způsobí změnu rozpoznávací jednotky, která se stane komplementární k antigenu. Takto přetvarované rozpoznávací jednotky si nově nabytý *pattern* uchovávají a putují do kmenových buněk. Při opakované stimulaci stejným antigenem tvoří kmenové buňky neúplné kopie pozměněných rozpoznávacích jednotek a uvolňují je do krve.

Burnet tedy předpokládá, že zavedení antigenu do buňky vyvolá tvorbu jednotek (o kterých později hovoří jako o enzymech), které se přizpůsobí ke zničení daného antigenu. Opakovaný kontakt s antigenem podporuje replikaci těchto enzymových jednotek. Protilátky kolující krví Burnet chápe jako částečné kopie pozměněných enzymových jednotek, které jsou sice specifické, ale postrádají enzymatickou působnost.

V Burnetově teorii vystupuje jako zásadní pojem obtížně přeložitelné slovo „*pattern*“.

*„Perhaps it would not be out of place to introduce here a parenthesis, as it were, on the significance of pattern in biological reactions. My own interests have been in the field of antibodies, viruses, enzymes, and genes, all potent agents of specific pattern, but now, and perhaps indefinitely, beyond the scope of classical organic and physical chemistry. Perhaps an alternative approach is beginning to open out in the concept of organic pattern as a carrier of ‚information‘ or ‚instructions‘ from one part of the organism or the cell to another – a communication theory, as it were, of the living organism.“*

„Asi nebude od věci zmínit se zde o významu *pattern* v biologických reakcích. Mojí oblastí zájmu byly protilátky, viry, enzymy a geny, velmi mocní činitelé se specifickým *pattern*, v dnešní době (či možná navždy) mimo dosah klasické organické a fyzikální chemie. Možná se tu otevírá alternativní přístup v pojetí organického *pattern* coby nositele ‚informace‘ nebo ‚instrukcí‘ z jedné části organismu nebo buňky na druhou – jakoby komunikační teorie živého organismu.“ (Burnet 1954, s. 191–192)

V 50. letech přitáhla pozornost také teorie N. K. Jerneho, který ji nazývá teorií přirozené selekce (***natural-selection theory***).<sup>179</sup> Jerne v antigenu nevidí ani templát, ani modifikátor enzymu, ale něco, co výběrově přenáší spontánně se tvořící protilátky do buněk, kde se pomnožují. Předpokládá, že organismus neustále tvoří mnoho různě tvarovaných globulinových molekul. Některé z těchto globulinů přirozeně vykazují afinitu vůči určitému antigenu (mají komplementární konfiguraci). Když se na tyto tzv. přirozené protilátky přichytí antigen, mohou být fagocytovány. (Jerne 1955, s. 849) To je signál, aby se začaly syntetizovat identické molekuly, tj. specifické protilátky. (Jerne předpokládá, že buď na počátku života jedince, nebo průběžně dochází ke spontánnímu vytvoření mnoha různých globulinů, které jsou náhodně specifické.)

Jerneova teorie tedy vychází z představy, že jsou v krevním oběhu standardně přítomna

---

<sup>179</sup> Podobná je teorie D. W. Talmageho. (Talmage, D. W. Allergy and immunology. *Ann. Rev. Med.*, 1957, 8: 239–256.)

malá množství protilátek proti všem antigenům. Vnesený antigen pouze umožňuje přenos „svého“ globulinu do buňky, kde dojde k jeho pomnožení. Tvorbu protilátek tedy vykládá jako replikaci vybraných globulinů stimulovanou antigenem. Organismus si neustále uchovává celé spektrum globulinů, změny se týkají jen určité skupiny globulinů.

Antigenová – templátová teorie, teorie modifikovaných enzymů a teorie přirozené selekce se liší tím, jakou roli připisují antigenu: První dvě teorie předpokládají, že se protilátky tvoří pod dohledem antigenů, antigeny nesou instrukce pro jejich tvorbu. Jiného ražení je třetí teorie, podle níž je informace potřebná k syntéze protilátky v organismu obsažena ještě před jeho stimulací antigenem. Antigen umožňuje pouze výběr protilátek, které se pak tvoří ve větším množství. Pro první skupinu teorií zavedl J. Lederberg výstižné pojmenování **instrukční teorie**, druhou skupinu nazval **teorie elektivní**. (Lederberg 1959, s. 1649)<sup>180</sup> Lederberg poukazuje na to, že instrukční teorie ovlivnil výzkum indukovatelné syntézy enzymů u bakterií, konkrétně role substrátu při indukci enzymu.<sup>181</sup>

### 9.3. Tvorba protilátek a představa templátu

Z výše popsaných úvah o tvorbě protilátek se do genetiky dostal pojem templát. Slovo **templát**, původně inženýrský termín z prostředí chemického průmyslu, použil pro působení antigenu v roce 1932 S. Miall.<sup>182</sup> Miall ve své knize popisuje vystoupení J. Alexandera před Americkou chemickou společností v roce 1926. Alexander při něm hovořil o protilátkách jako o substancích komplementárních k antigenu a pro větší názornost použil minci, jejíž povrch měl představovat povrch antigenu, a kousek staniolu, který na ni přitlačil. Staniol pak

---

<sup>180</sup> Lederberg navrhuje vlastní elektivní teorii. Podle ní dozrávající buňky imunitního systému spontánně vytvářejí malé množství protilátek, které odpovídá jejich genotypu, a jsou tedy preadaptované na reakci s příslušným antigenem. (Lederberg 1959, s. 1650)

<sup>181</sup> Indukovatelná syntéza enzymů označuje jev, kdy mikroorganismy tvoří určitý enzym, rostou-li na médiu se substrátem, na který tento enzym působí. Pokud v médiu substrát chybí, enzym potřebný k jeho štěpení se netvoří. Mikrobiální enzymy, které buňka tvoří bez ohledu na přítomnost jejich substrátu v médiu, se označovaly jako konstitutivní. Enzymy, které buňka tvořila jen v přítomnosti příslušného substrátu, se nazývaly adaptivní. (Gaebler, O. H. (ed.) *Enzymes: Units of Biological Structure and Function*. Academic Press, New York, 1956.) V 50. letech zkoumali indukovatelnou syntézu enzymů (označovanou původně jako enzymovou adaptaci) J. Monod s F. Jacobem, kteří počátkem 60. let navrhli operonový model. (Monod, J., Cohn, M. La biosynthèse induite des enzymes (adaptation enzymatique). In Nord, F. F. (ed.) *Advances in Enzymology*. 1952, 13: 67–119. Jacob, F., Monod, J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.*, 1961, 3: 318–356.)

<sup>182</sup> Miall, S. *Chemistry and Industry*. E. Arnold Company, London, 1932.

odpovídal povrchu protilátky, přičemž jeho svrchní strana představovala duplikát povrchu mince. Takto si Alexander představoval reprodukci na molekulární úrovni<sup>183</sup> a právě pro tuto roli antigenu použil Miall slovo templát.

K rozšíření představy templátového působení antigenu přispěl ve 40. letech M. R. Irwin (1949). Věnoval se růstu orgánů u embryí kuřat, která vystavoval protilátkám namířeným proti tkáni jednotlivých orgánů. Překvapivé bylo, že se u kuřat, kterým byly podány protilátky namířené proti buňkám jaterní tkáně, vyvinula játra větší než u kuřat vystavených protilátkám proti tkáni ledvin či proti svalovině. (Játra byla nicméně menší než játra kontrolního vzorku kuřat.) Irwin považuje tyto výsledky za důkaz, že:

*„Antibodies to a given organ protein can act as catalysts in the synthesis of more of that particular protein. This would lead us directly to a template concept of growth, with molecules of complementary configuration acting reciprocally as moulds for each other's synthesis ... Each differentiating cell would contain complementary key compounds, each of which would act as a mould for the other.“*

„Protílátky namířené proti proteinu určitého orgánu mohou působit jako katalyzátory při syntéze většího množství toho určitého proteinu. To by nás dovedlo k templátovému pojetí růstu, kdy by molekuly s komplementární konfigurací působily vůči sobě navzájem jako formičky pro svoji syntézu ... Každá diferencující se buňka by obsahovala komplementární klíčové složky, z nichž by každá působila vzhledem k té druhé jako formička.“  
(Irwin 1949, s. 112–113)

Při následných pokusech s transplantací jaterní tkáně mezi embryi se ukázalo, že zárodky s přijatou jaterní tkání jsou celkově menší, ale mají značně zvětšená játra.<sup>184</sup> Irwin uvažuje, že specifické části proteinů z jaterních buněk mohou fungovat jako podklad pro svoji další syntézu (pokud se dostanou do vhodného prostředí, jakým je jiná jaterní buňka). (Irwin 1949, s. 113)

Úvahy o roli templátu v tvorbě protilátek nastolily otázku, zda nejsou tímto způsobem tvořeny i ostatní proteiny. Názor, že tomu tak skutečně je, hájí například F. Haurowitz.

*„The concept of the analogous formation of antibodies and of normal proteins is supported by the fact that intermediates between antibodies and normal globulins have been found and that no sharp borderline between antibodies and normal globulins can be drawn. If we accept the view that the normal cellular proteins are formed as negative replicas of a positive cellular template, we are confronted with a serious dilemma, for there is no doubt that some proteins (such as those of the genes, of viruses, and other similar units of the living substance) are formed*

„Představu analogického utváření protilátek a normálních proteinů podporuje skutečnost, že byly nalezeny jakési mezičlánky mezi protilátkami a normálními globuliny a že mezi nimi neexistuje ostrá hranice. Přijmeme-li náhled, že jsou normální buněčné proteiny tvořené jako negativní repliky pozitivního buněčného templátu, jsme konfrontováni s vážným dilematem. Není pochyb o tom, že některé proteiny (jako třeba ty genové, virové nebo jiné podobné jednotky živé hmoty) jsou tvořené samoreprodukcí, tj. jako pozitivní repliky svých templátů. Myšlenka, že proteosyntéza může

<sup>183</sup> Alexander, J. Some Intracellular Aspects of Life and Disease. *Protoplasma*, 1932, 14 (1): 296–306.

<sup>184</sup> Weiss, P. The problem of specificity in growth and development. *Yale J. Biol. and Med.*, 1947, 19: 235–278.

*by self-reproduction, i.e., as positive replicas of their templates. The idea that protein synthesis could take place by formation of positive and of negative replicas at the same time and in the same organism is so unlikely that it must be rejected. Both ideas, however, can be reconciled with each other if we realize that the formation of a protein molecule must take place in two successive steps.*“

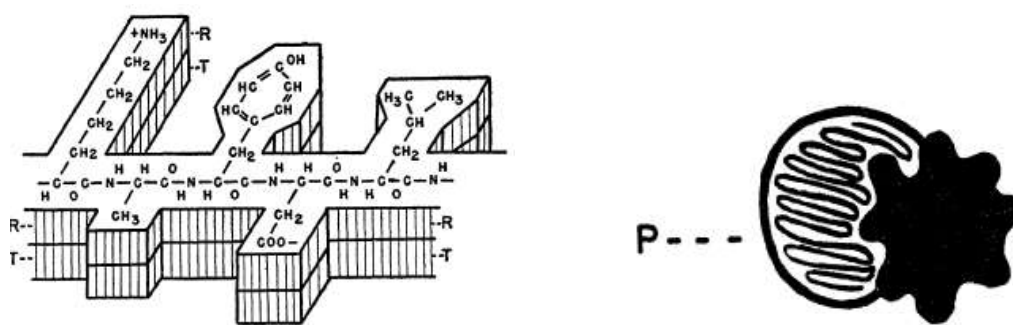
probíhat utvořením pozitivní a negativní repliky najednou a v jednom organismu, je tak nepravděpodobná, že ji musíme zamítnout. Obě představy lze ale smířit, připustíme-li, že formování proteinové molekuly musí probíhat ve dvou po sobě jdoucích krocích.“ (Haurowitz 1949, s. 98)

Haurowitz se domnívá, že prvním krokem je vytvoření řetězce aminokyselin. Tento krok přirovnává k růstu krystalu, kdy se jednotlivé vrstvy identických dceřiných molekul pokládají na povrch mateřského krystalu. Tento proces zachycuje levá část obrázku 17.<sup>185</sup> Druhý krok spočívá ve vytvoření trojrozměrné struktury, jejíž tvar záleží na konkrétním aminokyselinovém složení, především na polárních skupinách přítomných aminokyselin. (Tento krok je znázorněn na pravé části obrázku 17. Představa, že je množení proteinů dvojkrokový proces, se později ukázala správná.) Haurowitz předpokládá, že replika (kopie příslušného peptidu) nejpevněji přilne právě k polárním skupinám a díky tomu získá část molekuly, která bude těmito skupinami fixována, komplementární tvar a stane se negativní replikou okolí té polární skupiny. Haurowitz upozorňuje, že pouze kopie templátu, a nikoliv templát samotný nabude svého trojrozměrného uspořádání. Domnívá se, že je to způsobené nukleovými kyselinami navázanými na templát. (Haurowitz 1949, s. 98–99)

Haurowitzova představa utváření protilátek je tedy následující: Antigeny se soustřeďují v místě proteosyntézy a narušují ji. Při proteosyntéze se nejprve utvoří dvourozměrná replika vrstvy daného proteinu, která se následně uspořádá do trojrozměrné globulárně – elipsoidní částice. Antigeny zasahují především do průběhu této druhé fáze, kdy je globulární částice přizpůsobena tvarově tak, aby byla komplementární k determinační skupině antigenu (tj. k části antigenu zodpovědné za jeho specifickou). Takto pozměněný protein se v krvi chová jako protilátka. Role nukleových kyselin při proteosyntéze se podle této teorie omezuje na pomoc při uchování nerozpustné, pevné monomolekulární peptidové vrstvy templátu.

---

<sup>185</sup> Podobný pohled zastává i L. Pauling. Představuje si dvourozměrnou peptidovou vrstvu plovoucí v roztoku různých aminokyselin, z nichž se k výstavbě další vrstvy využívají jen ty aminokyseliny, které už jsou přítomny v první vrstvě. (Tj. na leucin se pokládá leucyl atd.) Kondenzací těchto aminokyselin na první vrstvu se vytváří její pozitivní dvourozměrná replika. (Pauling, L. Molecular structure and biological specificity. *Chem. & Industry, Suppl.*, 1948, 1–4.)



Obr. 17 Proteosyntéza podle F. Haurowitze. Vlevo reprodukce peptidového řetězce tvořeného lyzinem, alaninem, tyrozinem, aspartátem a leucinem. (T značí templát, R repliku.) Vpravo vytváření 3D struktury proteinu. (Černý útvar představuje průřez templátem, P značí protein.) (Haurowitz 1949, s. 98–99)

#### 9.4. Vztah protilátky a antigenu – představy specifčnosti

Vedle skutečnosti, že je organismus schopen tvořit nepřeberné množství protilátek, překvapovalo imunology jejich přesné zacílení na konkrétní antigen. Specifičnost reakce protilátky s antigenem se nejprve zkoumala na vztahu toxinů a sér izolovaných z imunizovaných zvířat, které tyto toxiny dokázaly zneškodnit. Je proto vhodné uvést zde alespoň stručný přehled těchto výzkumů.<sup>186</sup>

U základu tohoto směru bádání stojí objevy a následná izolace bakteriálních toxinů na sklonku 19. století. (První bakteriální toxin izolovali v roce 1889 E. Roux a A. Yersin z původce záškrtu.)<sup>187</sup> Poznatek, že při opakované infekci vykazuje organismus vůči nemoci větší odolnost, dovedl E. Behringa<sup>188</sup> k pokusu, kterým prokázal, že krevní sérum zvířat imunizovaných toxinem záškrtu a tetanu má schopnost toxiny zneškodnit. (Kontakt toxinu s jeho antitoxinem se v dobové literatuře označoval jako neutralizace.)

Tato neutralizace byla nejprve považována za zničení toxinu antitoxinem, následné pokusy ale tuto představu vyvrátily.<sup>189</sup> Neutralizace toxinu antitoxinem byla někdy

<sup>186</sup> Tato pasáž vychází z článku A. V. Stoessera, ve kterém najde čtenář mnohem podrobnější popis výzkumů toxinů a jejich antitoxinů. (Stoesser, A. V. The Toxin-Antitoxin Union. *The Journal of Infectious Diseases*, 1931, 48 (3): 255–281.)

<sup>187</sup> Roux, E., Yersin, A. Contribution a l'étude de la diphthérie. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1889, 3 (6): 237–288.

<sup>188</sup> Behring, E., Kitasato, S. Über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren. *Deutsche medizinische Wochenschrift*, 1890, 16: 1113–1114.

<sup>189</sup> J. Morgenroth nechal neutralizovanou směs hadího jedu a jeho antitoxinu ustát a pak pomocí kyseliny chlorovodíkové vyvolal jejich disociaci. Směs zahřál, což vedlo k rozkladu antitoxinu, a toxin se opět stal aktivní. (Ehrlich, P. Morgenroth, J. Über Hämolyse. V. *Berliner Klinische Wochenschrift*, 1901, 38: 251–255.)



přirovnávána k reakcím mezi kyselinou a zásadou.<sup>190</sup> V prvních desetiletích 20. století se rozšířil názor, že jsou toxiny a antitoxiny koloidy a jejich spojení odpovídá adsorpci.<sup>191</sup> Neutralizace toxinu antitoxinem měla podle tohoto pohledu probíhat ve dvou krocích: Po přípravném kroku v podobě adsorpce následovala vlastní chemická neutralizace toxinu (spočívající například ve vytvoření chemické vazby s antitoxinem).

Výzkum specifčnosti zásadním způsobem ovlivnil K. Landsteiner,<sup>192</sup> který využíval uměle pozměněné antigenní proteiny a zkoumal jejich specifčnost. Zjistil, že zavedení jedné či několika normálně neantigenních skupin (které nazýval hapteny), ovlivní specifické chování antigenu. Protože kromě samotné přítomnosti haptenu záleželo i na jejich umístění v molekule, soudil, že imunologická specifčnost závisí na stereochemické struktuře antigenní molekuly.

Imunologové zkoumali, zda část antigenu, jejíž změna vedla ke změně specifčnosti dotčené molekuly, existuje v daném antigenu jen jedna, nebo jich může být v jedné molekule víc. (Této části se začalo říkat **determinační skupina**.) Další otázkou bylo, zda při koexistenci různých determinačních skupin v jedné molekule antigenu dá každá skupina vzniknout odpovídající protilátce, nebo zda protilátky vznikají působením antigenu jako jednoho celku.

Z předpokladu, že v jedné antigenní molekule může koexistovat víc menších antigenních struktur, vychází W. T. J. Morgan (1937). Upozorňuje, že protilátky mohou

---

<sup>190</sup> Arrhenius, S. *Immunochemistry*. The Macmillan Company, New York, 1907. (Arrhenius neutralizaci přirovnával k reakci slabé kyseliny a slabé zásady. Upozorňoval na její vratnost a domníval se, že v roztoku je kromě toxinu zkombinovaného s antitoxinem přítomný ještě toxin a antitoxin ve volném stavu.)

<sup>191</sup> Koloidní systém, za který bylo spojení antitoxinu s toxinem považováno, je systém s velkým povrchem, ve kterém mají všechny části kontakt s disperzním médiem. Názor, že má toxin s antitoxinem koloidní povahu, zastává i A. V. Stoesser, důkazem pro to má být tzv. Danyszův jev. (Po jednorázovém smíchání veškerého toxinu s antitoxinem vznikne plně saturovaná směs toxin-antitoxin. Při postupném přidávání antitoxinu se nejprve vytvoří adsorpční komplex, ale další dávka antitoxinu už se s utvořeným komplexem spojuje hůře.) (Stoesser 1931, s. 280)

<sup>192</sup> Z mnoha článků věnovaných tomuto tématu lze uvést například Landsteiner, K. Über die Antigeneigenschaften von methyliertem Eiweiss. VII. Mitteilung über Antigene. *Z. Immunitätsforsch. u. exper. Therap.*, 1917, 26: 122–133. O významu chemické struktury pro specifčnost přirozených i umělých antigenů se čtenář dozví v článku Avery, O. T., Goebel, W. F., Babers, F. H. Chemo-immunological studies on conjugated carbohydrate-proteins IX. The specificity of antigens prepared by combining the p-aminophenol glycosides of disaccharides with protein. *J. Exp. Med.*, 1934, 60 (5): 599–617.

reagovat s několika látkami, které jsou si chemicky podobné, byť ne zcela shodné.<sup>193</sup> Při imunizaci se podle jeho názoru tvoří tolik typů protilátek, kolik antigenních struktur má daný antigen, netvoří se ale všechny najednou, ani se netvoří stejně rychle. Navzdory předpokládané existenci dominantních struktur v antigenu je to však podle Morgana povaha a molekulární konfigurace antigenu jako celku, co určuje výslednou imunologickou specifičnost. Počet a povaha specifických receptorů na antigenu nebo protilátce určuje hlavně pevnost spojení antigenu s protilátkou.<sup>194</sup>

Ve 40. letech definuje Landsteiner **specifičnost** jako „disproporční působení několika obdobných agens na různé příbuzné substráty.“ (Landsteiner 1945, s. 6)<sup>195</sup> Připouští, že některé typy specifických reakcí jsou založeny na pouhé strukturální komplementaritě mezi nezávisle vytvořenými molekulami. Obrovské množství molekul, proti nimž existují protilátky, však podle něj ukazuje, že to nemůže být případ protilátek a antigenů. Domnívá se, že se globulin při svém vytváření uzpůsobuje tak, aby mohl vůči danému antigenu fungovat jako protilátka.

*„Under the influence of antigens the formation of certain globulins is modified in such a manner that the resulting globulins are closely adapted to the immunizing substance.“*

„Pod vlivem antigenů dojde k takové změně v utváření určitých globulinů, že se výsledné globuliny přesně přizpůsobí imunizující látce.“  
(Landsteiner 1945, s. 148)

Vysvětlit komplementaritu povrchu antigenu a protilátky umožnila ve 40. letech výše popsaná teorie F. Haurowitze, která ji připsala deformaci peptidových řetězců během jejich

---

<sup>193</sup> Například M. Heidelberger a F. E. Kendall hovoří v této souvislosti o dominantních, resp. méně reaktivních antigenech a protilátkách. (Heidelberger, M., Kendall, F. E. Quantitative Studies on the Precipitin Reaction: The Role of Multiple Reactive Groups in Antigen-Antibody Union as Illustrated by an Instance of Cross-Precipitation. *J. Exp. Med.*, 1934, 59 (4): 519–528.)

<sup>194</sup> Problematice determinačních skupin se věnoval také J. R. Marrack, který testoval dvě možné hypotézy: První hypotéza předpokládá, že antigen A obsahuje dvě či více antigenní struktury a, b, c... a antigen B struktury a, p, q... Antigen B díky své složce a vychytá protilátky namířené proti struktuře a v antiA séru. Podle druhé hypotézy, se kterou se Marrack sám ztotožňuje, antigen A nese determinační skupinu a1 a antigen B nese determinační skupinu a2, která je podobná a1, ale není zcela stejná. Protilátky vytvořené při odpovědi na skupinu a1 se liší schopností reagovat na antigenní strukturu a2 a jen některé do a2 zapadnou. (Marrack, J. R. The Chemistry of Antigens and Antibodies. *J. Phys. Chem.*, 1934, 38 (7): 989–989.)

<sup>195</sup> „Disproportional action of a number of similar agents on a variety of related substrata.“ (Landsteiner 1945, s. 6)

utváření. (Peptidové řetězce se totiž mohou poměrně snadno stáčet, zatímco u globulárních proteinů už něco takového nejde.) (Haurowitz 1949, s. 96)

V průběhu 50. let se pojetí specifčnosti poněkud změnilo. Zdálo se totiž, že buňka může vytvořit v reakci na jedinou antigenní determinační skupinu více různých (ale podobných) protilátek. Někteří imunologové také poukazovali, že místo, které zajišťuje spojení antigenu a protilátky, je relativně malé a nejspíš nemůže existovat v tolika jedinečných provedeních, kolik je různých antigenů. Objevuje se proto představa, že protilátka může s antigenem vytvořit komplex i v okamžiku, kdy do sebe obě molekuly úplně přesně nezapadají. Přesné zapadnutí dvou molekul (enzymu a substrátu) do sebe zmiňovala sedmá kapitola jako teorii zámku a klíče. Podle D. W. Talmageho se může obdobně vztah protilátek a antigenů přirovnávat k zámku a paklíči: Jedna protilátka – paklíč – zapadne do několika zámků – antigenů. (Talmage 1959)

## 9.5. Tvarovost ve vysvětlování proteosyntézy

Představa specifčnosti a templátu našla v genetice uplatnění při vysvětlování genového působení, konkrétně při předávání specifčnosti z nukleové kyseliny na molekulu proteinu. Vycházelo se z představy, že specifčnost DNA a RNA spočívá v pořadí dusíkatých bází a specifčnost proteinů v uspořádání aminokyselin. (Beadle 1955, s. 15) Problematiku tvorby proteinů (proteosyntézu) pojednává ve svém díle D. Schwartzová (1955). Její teorie sice není ani ojedinělá, ani nejslavnější<sup>196</sup>, ale dobře ukazuje, jak se v polovině 50. let k tomuto tématu přistupovalo. Proto jí zde bude věnována větší pozornost.

Schwartzová uvažuje, že mezi uspořádáním bází nukleových kyselin a aminokyselin proteinů nemůže panovat jednoduchý vztah, při němž by jedné aminokyselině odpovídala jedna (případně dvě či tři báze), a přemýšlí, co by mohlo omezovat možné pořadí aminokyselin v proteinech. Domnívá se, že při tvorbě peptidového řetězce aminokyseliny zapadají do různě utvářených prohlubní na vláknu nukleové kyseliny. Tyto prohlubně podle ní vytvářejí sousední báze nukleové kyseliny. V závislosti na tom, které báze jsou vedle sebe přítomné, se do této prohlubně daná aminokyselina buď vejde, či nevejde. (Schwartz 1955, s. 300–301)

---

<sup>196</sup> Velmi známá je například představa G. Gamowa, podle které aminokyseliny při tvorbě proteinů zapadají do prohlubně vytvořené čtveřicí bází nukleové kyseliny. Tuto prohlubeň mají vytvářet dvě dvojice bází situované vždy na jednom, resp. druhém vláknu dvoušroubovice DNA. (Gamow, G. Possible Mathematical Relation between Deoxyribonucleic Acid and Proteins. *Kgl. Danske Videnskab. Selskab Biol. Medd.*, 1954, 22: 1–13.)

Tento návrh měl dva nápadné nedostatky. Jedním byla skutečnost, že šestnáct možných dvojic dusíkatých bází nepokryje všech dvacet proteinogenních aminokyselin. Druhý problém spočíval v tom, že tato představa omezovala možná pořadí aminokyselin. Vedle jedné konkrétní aminokyseliny totiž mohla existovat jen jedna z maximálně osmi dalších aminokyselin. (Jedna z dvojice bází, která určovala sousední aminokyselinu, už totiž byla dána.)

Tyto potíže vedou Schwartzovou k názoru, že úsek nukleové kyseliny nemůže specifikovat veškeré aminokyseliny v proteinu o stejné délce. Řešení přenosu specifčnosti z nukleové kyseliny na protein vidí v tom, že musí být určeno uspořádání pouze několika aminokyselin. (Schwartz 1955, s. 302) Soudí, že sekvence bází determinuje pozici, kterou v proteinu zaujímají planární aromatické aminokyseliny, včetně histidinu. (Obdobné úvahy se často odvolávají na strukturální podobnost mezi některými aminokyselinami a bázemi.)

*„Phenylalanine or tyrosine will be bound wherever a cavity is formed by two adjacent pyrimidines on the nucleic acid chain. Histidine or tryptophan will be bound by two purines lying side by side. The sites of cavities composed of a purine and a pyrimidin correspond to the nonaromatics. There is more than enough information in the purine-purine combinations and the pyrimidine-pyrimidine combinations to specify the four aromatic aminoacids, since there are four possible arrangements for each combination.“*

„Fenylalanin či tyrozin se naváže kamkoliv, kde se vytvoří na nukleotidovém řetězci prohlubeň mezi dvěma sousedními pyrimidiny. Histidin nebo tryptofan se naváže tam, kde budou vedle sebe dva puriny. Prohlubně mezi pyrimidinem a purinem budou obsazovat nearomatické aminokyseliny. V kombinaci purin – purin a pyrimidin – pyrimidin je uložen dostatek informace na to, aby mohly být specifikovány všechny čtyři aromatické aminokyseliny, neboť existují čtyři možná uspořádání pro každou kombinaci.“ (Schwartz 1955, s. 303)

Schwartzová si uvědomuje, že i tato hypotéza klade jistá omezení na uspořádání aminokyselin, a to na pozici, v jaké se mohou k sobě navzájem nacházet dvě aromatické aminokyseliny. (Například tyrozin vázaný na prohlubeň mezi dvěma pyrimidiny nemůže sousedit s histidinem, který vyžaduje prohlubeň mezi dvěma puriny.) Další potíží tohoto návrhu je skutečnost, že nedokáže vysvětlit uspořádání ostatních aminokyselin, které je také specifické a konstantní. Schwartzová se pokouší nalézt východisko z této situací dodatečným tvrzením, že se v cytoplazmě předpřipravují (pod vlivem genetického materiálu) krátké alifatické peptidy. Tyto peptidy jsou následně vyzkoušeny, zda zapadnou do templátu mezi pevně stanovené aromatické aminokyseliny.<sup>197</sup> Poněvadž je řetězec nukleové kyseliny delší

---

<sup>197</sup> Představa, že se dlouhé peptidové řetězce tvoří spojováním kratších peptidů, je obsažena v tzv. transpeptidázové hypotéze. (Dounce, A. L. Duplicating Mechanism for Peptide Chain and Nucleic Acid Synthesis. *Enzymologia*, 1952, 15: 251–258. Campbell, P. N., Work, T. S. Biosynthesis of Proteins. *Nature*, 1953, 171: 997–1001.)

než řetězec tvořeného proteinu, předpokládá Schwartzová, že je pořadí nearomatických aminokyselin určeno vždy několika bázemi.

*„In other words, the cytoplasm would specify which peptides would be formed, whereas the nucleic acid-aromatic amino acid complex would specify which of these would be fitted onto the template.“*

„Jinými slovy cytoplazma by specifikovala, které peptidy se vytvoří, zatímco komplex nukleové kyseliny s aromatickými aminokyselinami by specifikoval, které z nich do templátu zapadnou.“  
(Schwartz 1955, s. 305)

Schwartzová svoje vysvětlení proteosyntézy chápe jako kombinaci templátové a transpeptidázové hypotézy. Považuje si na ní především toho, že dostojí nezbytnému předpokladu přímé genové kontroly nad specifikací proteinů. Zároveň představa, že se na templát přikládají nikoliv jednotlivé aminokyseliny, ale přímo peptidy, vysvětlí velkou rychlost tvorby proteinů.

Na popsané teorii je vidět docenění specifického prostorového uspořádání molekuly. (Sousedství jednotlivých bází v DNA je důležité kvůli prostoru, který se mezi nimi vytváří. Zapadnutí aminokyseliny do příslušně vytvarovaného prostoru zajistí jejich seřazení, a tím přenesení specifčnosti z nukleové kyseliny na protein.) V tomto smyslu je možné vidět v této teorii odezvu imunologického výkladu tvorby protilátek, kdy je pro vytvoření specifického proteinu potřeba mít „správně“ tvarovanou molekulu, tj. antigen s determinacími skupinami v příslušné pozici.

Imunologická vysvětlení tvorby protilátek, resp. proteinů se ve 40. a 50. letech opírala o tvary molekul, které se uplatňovaly jako formičky či razítka. Prostorové vyformování bylo pokládáno za zcela zásadní, přičemž nejmenším nositelem tvarovosti byla právě molekula. Tento pohled, který hovoří o utváření pozitivních a negativních replik molekul či o vzájemném komplementárním zapadání molekul, můžeme nazvat analogovým. Molekulární genetika v 50. letech 20. století sice přejímá některé imunologické pojmy, ale analogové uvažování je jí cizí. Její pohled se naopak dá označit za digitální. (Příkladem může být právě pojem templát, který v molekulární genetice zůstal jako termín, představu templátu působícího jako prostorová matrice však nahradilo digitální předávání informace.) V tomto smyslu představují výše popsané teorie smýšlení, od kterého se molekulární genetika ve svých počátcích oprošťovala.

## 10. Diskuse

Přehlédneme-li teorie a bádání popsané v této disertaci, vyvstane nám příběh genetiky, její vznik, ustavení právoplatnou vědou a její následný vývoj. Jde o velmi úspěšnou vědu, která si ve 20. století vydobyla respekt srovnatelný možná jen s teorií relativity. Mimořádné postavení tohoto biologického oboru souvisí s jeho exaktností, kterou mu získal pojem gen. (Slovem gen zde pro jednoduchost označuji nejen klasický gen, ale také pangen a další jednotky.) Vývoj genetiky byl sice spletitý, ale pokud vyzdvihneme zásadní události a témata, jde o příběh nápadně připomínající kuhnovský scénář.

Podle slavné práce T. S. Kuhna z roku 1962 nezakládá vědu samo zkoumání skutečnosti jako takové, ale především formálně definovaný pojem, který uznává celá komunita badatelů. Obecně přijatá definice předmětu bádání umožňuje, že jsou problémy jasně zformulované a zároveň je zřejmé, jak se mají řešit. Dodržování tohoto způsobu provozování vědy znamená, že vědci postupují správně. Hranice mezi vědeckým a nevědeckým je dána právě způsobem kladení otázek.

Tento sdílený styl zkoumání, jak bádát a čeho si všímat, nazval Kuhn slovem paradigma. (Původně široce pojaté paradigma Kuhn později zúžil na zakladatelské dílo.<sup>198</sup>) Předmět vědy Kuhn za paradigma nepovažoval, ale poukázal, že paradigma předmět spoluurčuje a že se změnou paradigmatu mění předmět poznání. Povaha vědy vyplývá z definice tohoto předmětu.

Podle Kuhna předchází vzniku vědeckého oboru tzv. předparadigmatické období. V této době každý badatel vykládá jev, který se později stane předmětem speciální vědy, po svém. Tyto jevy, na které se zaměří pozornost badatelů, jsou v zásadě známé a přístupné všem. (Příkladem může být teplo, hoření či tíže.) Když tyto jevy jednotliví autoři vysvětlují, musí vždy uvést základy, na nichž jejich výklad stojí, a předpoklady, z nichž vycházejí. Spisy z předparadigmatického období mají tedy podobu monografií.

Nový vědecký obor vzniká právě v okamžiku, kdy se rozhodne o povaze předmětu a zároveň s tím i o způsobu jeho poznávání. Neboli teprve teorie, která tento jev přesně definuje, z něj udělá předmět vědy. Definice tohoto předmětu musí splňovat některá kritéria: Aby se na určitém pojetí výzkumníci shodli, musí být formální, abstraktní a pokud možno

---

<sup>198</sup> Jako příklad můžeme uvést *Philosophiae Naturalis Principia Mathematica* I. Newtona nebo *Traité Élémentaire de chimie* A. L. Lavoisiera.

nezávislé na představách a zkušenostech jednotlivých badatelů. (Abstraktnost znamená, že se neptáme, co to je, nýbrž jak se s tím zachází. Otázky, co je elektřina nebo život, do vědy o těchto věcech nepatří.) Sjednocení způsobu provozování vědy umožňuje, aby se vědci po celém světě věnovali stejnému oboru, navazovali na cizí poznatky a srovnávali dosažené výsledky. V této situaci již postačuje psát kratší články, neboť základní principy výzkumu jsou všem známe a sdílené.

Pro období, v němž se věda řídí konkrétním paradigmatem, používá Kuhn označení normální věda. Během ní se badatelé věnují otázkám, které jsou pokládány za legitimní, a svou prací potvrzují uznávané paradigma. Vědeckou práci v období normální vědy přirovnává Kuhn k řešení hlavolamů či skládaček (*puzzle solving*). Paradigma dává vědcům jistotu, že je každý problém řešitelný i jak jeho řešení vypadá. Normální věda se soustřeďuje na jevy, které do paradigmatu zapadají, překvapení se neočekávají a jsou z podstaty věci nežádoucí.

Označení normální věda neznamena, že je tato věda „obyčejná“, nýbrž že se řídí normou, která jí umožňuje vyhnout se potížím. Někaké potíže – odchylky – se ale záhy vždy objeví. Jde o jevy, které by podle paradigmatu neměly být a které se nedaří obvyklým způsobem vysvětlit. Zde se ukazuje druhý význam slova paradigma (vedle výše zmiňovaného vzoru). Paradigma je jakýsi zdroj pravdy a skutečnosti, se kterým už je „vše vyřešeno.“ Vědci jeho platnost pouze potvrzují, aplikují na další případy a zobecňují na širší oblast. Nehodící se jevy často přehlíží, protože očekávají, že se pro ně v budoucnu najde řešení v rámci paradigmatu. Druhou možností, jak se k nehodícím se jevům postavit, je jejich „odvysvětlení“ a začlenění do stávajících teorií. (Obvykle se přitom poukazuje na nějaký metodický zádrhel – „artefakt.“) Pokud ani jedna z uvedených cest neumožňuje se s existencí daného jevu vyrovnat, musí být přizpůsobeno paradigma. Odchylky, které si toto vynutí, nazývá Kuhn anomálie. Dodatečné úpravy paradigmatu, nově zaváděné předpoklady a jiné revize však způsobují, že se původně jednoduchý koncept stává nepřehledným. (Příkladem může být množení epicyklů u Klaudia Ptolemaia.) *Ad hoc* adaptace si mohou různí vědci vykládat po svém, což podkopává důvěryhodnost paradigmatu. V této době se anomáliím, které byly původně odsouvány stranou, věnuje zvýšená pozornost a zkouší se dříve nemyslitelná řešení. Krize končí v okamžiku, kdy se prosadí jeden pohled, který vědeckou obec sjednotí. Tento zvrat, z něhož vzejde nové paradigma, nazývá Kuhn vědeckou revolucí. Podle Kuhna nemůže žádná skutečnost, jakkoliv je problematická, paradigma vyvrátit. Může dojít pouze k jeho nahrazení jiným paradigmatem, které se nejlépe vypořádá s nevyřešenými anomáliemi. To ovšem neznamena se všemi, může stačit vyřešení jediného problému, který je v období

krize pokládán za nejpálčivější. Ostatní nevyřešené otázky upadnou do zapomnění, případně přestanou být pokládány za důležité.

Výše popsané události nacházíme i v dějinách genetiky. Diplomová práce autorky, na niž tato práce časově i tematicky navazuje, zachycovala vybrané teorie dědičnosti ve druhé polovině 19. století. V této době vedle sebe existovalo množství spekulativních teorií, které dědičnost pojímaly a vysvětlovaly nejrozličnějším způsobem. Jednalo se o předparadigmatické stádium, které ukončilo znovuobjevení Mendelova díla v roce 1900.

Mendel ve svém zakladatelském díle připisoval pozorované znaky vlohám (*Anlagen*), kterými se mohli různí jedinci odlišovat. Pro jím popsané principy, o které se genetika opírala, se užívá označení Mendelovy zákony. Mendel v nich ukazuje, že křížením jedinců konstantně se lišících v jednom párovém znaku (tj. křížením jedinců P generace) získáme potomstvo vzhledově uniformní (tzv. F1 generaci), přičemž nezáleží na tom, zda danou formu znaku nesla matka nebo otec. (Toto zjištění je známo pod označením zákon o identitě reciprokých křížení a stejnorodosti F1 generace.) Z následného křížení těchto hybridů Mendel vyvozoval, že jedinci F1 generace vytvářejí dva typy zárodečných buněk, které jsou z hlediska vloh stejné jako zárodečné buňky jeho rodičů. Soudil, že tito hybridi disponují oběma rodičovskými vlohami, které si uchovávají svoji individualitu. Potomstvo těchto hybridů je nestejnorodé. (Jde o zákon o čistotě vloh a jejich vyštěpování.) Při křížení vícenásobných hybridů, tj. jedinců vzniklých křížením rodičů lišících se ve více znacích, ukazoval, že může vzniknout tolik kombinací, kolik je možných kombinací mezi veličinami na sobě nezávislými. (Toto zjištění bývá označováno jako zákon o volné kombinovatelnosti vloh.) Podle Mendelových zákonů tedy dědí potomek vždy po obou rodičích, byť může vykazovat vlastnost jen jednoho z nich. Nepředává se přitom vlastnost sama, ale „cosi v pozadí“ (Mendelovy *Anlagen*).

Vznik genetiky představuje výrazný zlom, který s sebou přináší novou terminologii. Některé pojmy genetika uchovala z dřívějších dob (byť jim přidělila zcela nový obsah), jiné pojmy nově vytvořila. Ústřední místo mezi nimi zaujímá gen, který označoval „to nepostradatelné něco v zárodečných buňkách nutné pro vývoj vlastnosti v jedinci.“ (Castle 1933, s. 1011) I když je genetika obecně pokládána za nauku o dědičnosti, ve skutečnosti je vědou o genech. Jejím předmětem totiž nebylo sledovat, jak se předávají vlastnosti (úkol, který Johannsen označoval za transmisní dědičnost), nýbrž jak se v jednotlivých generacích distribuují dědičné faktory, geny. Nezávislost a vzájemná neovlivnitelnost vloh, na kterou poukazují Mendelovy zákony, vedly k představě těchto faktorů (genů) jako něčeho neměnného, čemu byla přisouzena objektivní skutečnost.

Podle Kuhna zahrnuje paradigma i tzv. symbolická zobecnění, výrazy snadno



vyjádřitelné logickou formou. Tato zobecnění mj. definují některé symboly, které se v nich vyskytují. Za symbolická zobecnění v klasické genetice můžeme považovat mendelovskou notaci, užívání písmen pro zápis křížení a vysvětlení jeho výsledků. Někteří badatelé věnující se dějinám genetiky poukazují, že geny samotné je možné chápat jako symboly. To proto, že mezi jejich přirozeností (formou) a jejich účinkem (vývojovými výstupy, které způsobují) není žádné nutné spojení. (Smith 2000, s. 177)

Mendelovo dílo ustanovilo jako relevantní úkol křížení jedinců, kteří představovali z hlediska daného znaku čisté linie, sledování jejich potomstva a stanovování štěpných poměrů mezi nimi. Síla mendelistické genetiky spočívala mj. ve schopnosti spolehlivě předvídat výsledky křížení. Z výsledků těchto křížení se vyvozovala přítomnost genů, na jejichž kombinování se genetika zaměřovala. Nezávislost genů byla spatřována ve dvou ohledech: Jednak se mohly měnit (mutovat), aniž by změnily některý další gen, jednak byl při segregaci a *crossing-overu* každý jejich pár oddělitelný od ostatních párů. (Morgan 1919, s. 240–241)

Čistě abstraktní pojetí genu jako kombinatorické jednotky však záhy odsunula chromozomová teorie, která v genu viděla hmotnou částici v chromozomu.<sup>199</sup> Chromozomová teorie připisovaná T. H. Morganovi souvisí se zkoumáním cytologické povahy vazby. (Hrubý 1961, s. 73) Štěpné poměry některých znaků odpovídaly poměrům zjištěným u znaků vázaných na pohlaví, i když tyto znaky prokazatelně neměly k pohlavním chromozomům žádný vztah. Zásadní význam měla F. A. Janssenssem popsaná chiasmata<sup>200</sup>, která se tvoří na bivalentech v profázi heterotypické meiózy a po jejichž vytvoření dochází k výměně částí chromatid. Tato zjištění vedla k přesvědčení o uspořádání genů na chromozomech v řadě za sebou. (O existenci vazbových skupin, do nichž jsou na chromozomech seřazeny geny, hovoří tzv. Morganovy zákony.) Samotné pozorování chiasmat však výměnu úseků chromatid neprokazovalo, protože se jednotlivé chromatidy nedaly morfologicky odlišit. Jejich odlišení umožnilo až pozorování chromozomových aberací. Cytologicky byla existence *crossing-overu* prokázána až v roce 1931 při pozorování párových chromozomů odlišitelných viditelnou translokací.<sup>201</sup> Představu genu jako hmotné partikule v chromozomu podpořilo také

---

<sup>199</sup> Morgan na mnoha místech píše, že i kdyby byla chromozomová teorie vyvrácena, není v jeho práci nic, co by nemohlo být bráno samo o sobě, tj. nezávisle na chromozomech. (Morgan 1915, s. viii)

<sup>200</sup> Janssens, F. A. La théorie de la chiasmotypie. Nouvelle interpretation des cinèses de maturation. *La Cellule*, 1909, 22: 387–411.

<sup>201</sup> Creighton, H., McClintock, B. A correlation of cytological and genetical crossing-over in *Zea mays*. *PNAS*,

složení chromozomu z chromomer. Cytologické ověření chromozomální teorie usnadnily polyténní chromozomy, na jejichž chromomerech bylo možné podle chromozomových map vyhledat pozice určitých genů a sledováním aberací ověřit správnost jejich lokalizace.

Již ve velmi časných genetických pracích najdeme upozornění, že mendelovský přístup, kdy se organismus rozčlení na jednotlivé diskrétní vlastnosti spojované s určitým genem, má své hranice. Především úvahy W. Johannsena představují rané domýšlení paradigmatu a jeho omezení. Johannsen upozorňuje, že nositel vlastnosti a kombinatorická jednotka nejsou totéž. Gen (resp. jednotkový faktor popisovaný mendelisty) označuje za pouhou provizorní jednotku, protože je závislý na počtu genových rozdílů při zkoumaných kříženích. (Mnoho jednotkových faktorů pro určitou vlastnost může být současně také jednotkovým faktorem pro nějakou jinou vlastnost.) Očekává, že po době, kdy přibývají nové a nové jednotkové faktory, může přijít doba, kdy se bude zjišťovat, co všechno daný jednotkový faktor ovládá a kolik genů se na daném znaku podílí. (Johannsen 1911, s. 153)

Johannsen výslovně říká, že jsou výsledky mendelovské analýzy relativní. Není totiž možné poznat, zda šlo o ztrátu některého faktoru v genotypové konstituci jedince, nebo o pozitivní změnu (vznik nového faktoru). Všechno, co může mendelovská analýza určit, je pouze „*počet odlišných bodů (number of differing points)* mezi dvěma gametami tvořícími heterozygota. Takové rozdíly mohou být nazývány genovými rozdíly (*geno-differences*).“ (Johannsen 1911, s. 148–149) Johannsen tedy upozorňuje, že genetické sledují nikoliv projevy genů, ale projevy genových rozdílů. Uvážíme-li, že mezi různými geny mohou existovat spleťtité vztahy, které se mění podle konkrétní situace, je obtížné se touto cestou pořádně genům přiblížit.<sup>202</sup> Johannsenovy názory dosvědčují, že již na samém počátku genetiky byl gen pochopen jako výpověď o rozdílu.<sup>203</sup>

---

1931, 17: 492–497. Stern, C. Zytologisch-genetische Untersuchungen als Beweise für die Morganische Theorie des Faktorenaustausches. *Biologische Zentralblatte*, 1931, 51: 547–587.

<sup>202</sup> Na skutečnost, že genetika spočívá ve sledování projevů rozdílů, naráží mj. E. Schrödinger. Všimá si, že ačkoliv je organismus jednotný celek, rozděluje ho genetické na jednotlivé diskrétní vlastnosti, a takto přibližuje význam slova gen: „To, co v chromozomu lokalizujeme, je sídlo rozdílnosti. (V odborném jazyce to nazýváme lokus, nebo máme-li na mysli hypotetický hmotný strukturní podklad, gen.) Rozdílnost vlastností, a ne samotná vlastnost je podle mého názoru tím vskutku fundamentálním pojmem, bez ohledu na zjevný jazykový a logický protiklad v takovém vyjádření. Rozdíly vlastností jsou skutečně diskrétní...“ (Schrödinger 1944, citováno podle českého překladu Schrödinger 2004, s. 61)

<sup>203</sup> Tato myšlenka se objevuje v práci G. Batesona. (Bateson, G. *Mind and Nature: A Necessary Unity*. New York, Hampton Press, 1979, ISBN 1-57273-434-5.)

Působení samotného genu uzavřela genetika do „černé skříňky“ (*black-box*) a omezila se na sledování vstupu a výstupu. Výstupem byla přítomnost určité vlastnosti u potomstva. Genetikové sledovali fenotypové změny, k nimž docházelo při kříženích, statisticky je vyhodnocovali a sledovali, zda se předpokládaný model předávání genů slučuje s pozorovanými fenotypy. Tento výzkum byl odkázán na diskrétní znaky, jejichž přítomnost se dala jasně a zřetelně rozpoznat. Znaky, které genetikové sledovali, musely být slučitelné s přežitím a pokud možno neovlivňovat schopnost následného rozmnožování, aby se mohlo křížit i v další generaci. Proto se sledovaly znaky nevýznamné, jejichž změny zásadně neohrožovaly životaschopnost jejich nositelů. (Příkladem může být zbarvení očí octomilek.) Vlastnosti potomků nebyly zásadní samy o sobě, staly se pouhým symptomem, který naznačoval přítomnost určitého genu. (Kromě zaznamenanatelných změn fenotypu se výstupem křížení stal i cytologický popis chromozomu.)

Genetikové se nicméně setkávali s jevy, které jim nedovolily úplně rezignovat na otázku, co se v „černé skřínce“ děje. Uchovávali si naději, že se genové působení časem stane přístupné a že právě genetika jejich otázky zodpoví. Například T. H. Morgan ve 30. letech řadil mezi hlavní úkoly, které stojí před genetikou v blízké budoucnosti, porozumění fyzikálním a fyziologickým procesům při duplikaci genů, povahu mutačního procesu a vztah genů k vlastnostem. (Fox-Keller 1983, s. 60) Ve 40. letech 20. století se v genetice významně uplatňují mikroorganismy (*Neurospora*, *Escherichia coli* apod.). Uvážíme-li, že se geny zkoumaly prostřednictvím změněného fenotypu, museli si genetikové u těchto „neviditelných“ tvorů všimnout jiných znaků než u octomilek. Sledovatelným fenotypem mikroorganismů byly metabolické změny (například narušená schopnost syntetizovat určitou látku). Využívání metabolických mutantů, kdy se jako fenotypová změna sleduje, zda na médiu mikroorganismy (ne-) rostou či (ne-) přežívají, propojuje genetiku a výzkum metabolismu. Jde o okamžik, kdy klasická genetika ustupuje genetice molekulární.

Tuto genetiku, která se zabývala vlastnostmi bezprostředně ovlivňujícími životaschopnost daného jedince, můžeme nazvat „absolutní.“ Zrušila omezení na životně nedůležité, postradatelné funkce a zredukovala fenotypové projevy na minimum. Vlastnosti dotýkající se vitality jedince se daly zkoumat bez ohledu na to, čím jsou. Využívání podmíněných mutací genetikům umožnilo všimnout si čistě kombinatoriky genů a zcela při křížení pomíjet dědění vlastností.

Vývoj genetiky provázejí od samých počátků „potíže“ v podobě neočekávaných odchylek. (Už samotnému Mendelovi se nepodařilo jeho zákony dědičnosti ověřit u ještěrů, což ho přimělo pochybovat, zda jsou obecně platné. V pozdější době byla

situace u jestřábníků „odvysvětlena“ samosprašováním.) Je docela dobře možné, že Mendel při křížení hrachu odkládal nehodící se jedince stranou jako bezvýznamné výjimky. Na tuto možnost upozorňuje podle R. A. Fishera<sup>204</sup> nezvykle vysoká shoda experimentálních dat s teorií.

Někteří genetikové si naopak odchylek považovali. Například B. McClintocková se při svých výzkumech kukuřice soustředila právě na ně. W. Bateson již na počátku 20. století nabádá začínající genetiky, aby nalezené výjimky střežili, nezastírali je a měli je neustále na mysli, neboť právě ony nenechají vědeckou práci ustrnout. (Bateson 1908, s. 19)

Odchylky od Mendelových zákonů vysvětlovali klasičtí genetikové zaváděním dalších genů, u nichž předpokládali mendelistické chování. Tímto „přidáváním“ genů se například vysvětlovalo dědění kvantitativních znaků. (Podle obecně uznávaného názoru, o jehož prosazení se zasloužili mj. H. Nilsson-Ehle, R. A. Emerson nebo E. M. East, šlo o více genů, které byly děděny nezávisle a vykazovaly kumulativní vliv.) Snahu vysvětlit jevy zaváděním dalších „tradičních“ genů ukazuje také výklad supresí. (Jejich příčinu genetikové viděli v duplikacích genu. Teprve v situaci, kdy se duplikace nedařilo cytogeneticky prokázat, se hledala jiná vysvětlení tohoto jevu.) Genetikové věděli, co mají hledat, a jiné nehledali. Příznačný je výrok W. E. Castlea, který zkoumal velikost těl králíků: „Mám jen negativní důkazy pro existenci takovýchto chromozomálních genů ovlivňujících velikost těla. Nicméně nepochybuji, že takové geny existují.“ (Castle 1933, s. 1012) Zatímco odvysvětlení některých méně důležitých odchylek bylo v rámci standardní péče o paradigma (*mopping-off activity*), jiné odchylky (anomálie) představovaly výraznější zásah do celkového obrazu, který se stával složitějším obdobně jako ptolemaiovská soustava. Za obzvlášť nežádoucí byly pokládány výjimky, které problematizovaly některá základní tvrzení paradigmatu. Těmito anomáliemi byly mj. genová vazba, interakce, pleiotropismus či psedoalelismus.

Nepříjemná byla existence mutabilních lokusů, která zpochybňovala představy o stálosti genů. Geny neinteragovaly jen funkčně, ale mohly se též proměňovat. (Vyšší četnost mutací na těchto lokusech se připisovala mutátorovým genům, s nimiž se nakládalo jako s klasickými geny.) Tento jev ztěžoval pohled na geny jako na obdobu atomů. (Atom určitého prvku zůstává pořád stejný, ať se nachází v jakékoliv chemické sloučenině. Geny se však mohou měnit, navíc je ovlivňuje jejich okolí.)

První výrazná anomálie, která se objevila v klasické genetice, byla vazba genů. Na tento jev ukázaly situace, kdy zjištěné štěpné poměry zásadně nesouhlasily s očekáváním. Vazba

---

<sup>204</sup> Fisher, R. A. Has Mendel's work been rediscovered? *Ann. Sci.*, 1936, 1: 115–137.

genů odporovala předpokládané volné kombinovatelnosti genů a upozornila genetiky, že je třeba brát v úvahu pozici genů. (Pozicí se zde rozumí pořadí jednotlivých genů tak, jak jsou za sebou uspořádané na chromozomu.)<sup>205</sup> Uspořádání genů se stalo (vedle přítomnosti vlastnosti) dalším genetickým výstupem. Klasická genetika předpokládala, že je toto uspořádání lineární, což se později potvrdilo. Zájem o vazbu genů, potažmo jejich pozici, vedl k mapování chromozomů.

Další nechtěný jev, na který klasická genetika narazila, bylo zjištění, že fenotyp jedince neodpovídá vždy souhrnu vlastností připisovaných jednotlivým mutantním alelomorfům. Tato nesrovnalost se vysvětlovala existencí modifikátorů, genů, které interagovaly s těmito alelomorfami. Skutečnost, že působení určitého genu ovlivňují jiné geny, nevyhovovala představě nezávislých jednotek, neboť upozorňovala na roli sousedních genů. Genové interakce tedy představují další jev (vedle vazby genů), který oceňoval význam pozice.

Zásadní anomálií byl poziční efekt, který ukazoval závislost genového působení na kontextu. Také on narušoval představu genu coby diskrétní a nezávislé jednotky. Genetikové sice nezpochybňovali, že změny v umístění genů nezůstanou bez odezvy, nicméně předpokládali, že „povaha a počet genů znamená víc než jejich pozice.“ (Gulick 1938, s. 5)

Výzkum pozičního efektu přinesl ve 30. letech představu, která poukazuje k pseudoalelismu. (Carlson 1959, s. 38) Pochází od C. A. Offermanna<sup>206</sup>, který z pozičního efektu vyvozuje, že mutantní projev genu může vyvolat nejen jeho vlastní mutace, ale i mutace obou sousedních genů. Existují podle něj tedy tři možnosti, jak zajistit mutantní fenotyp: Buď mutací v genu samotném, nebo mutací genu umístěného napravo od něj, nebo mutací genu umístěného nalevo od něj. (Zkrátka, je-li gen **b** přístupný pozičnímu efektu, pak může mutantní projev **b** vyvolat mutace kteréhokoliv genu v pořadí **a-b-c**.) Offermann dále uvažuje, že v situaci, kdy jedna alela podmiňuje fenotyp **b** společně s jinou mutantní alelou, která také podmiňuje **b** fenotyp, může příležitostně dojít *crossing-overem* k reverzi divokého

---

<sup>205</sup> Jak podotýká S. Sarkarová, vysvětlení vazby představou, že každý lokus odpovídá nějakému místu na chromozomu a že v tomto případě jsou lokusy na jednom chromozomu, nebylo nezbytné. Podstatné bylo jen to, že lokusy tvoří vazbovou skupinu a jsou děděny v podobě jakéhosi souboru. Abstraktní povaha genetické hierarchie byla klasickým genetikům jasná. (Sarkar 1998, s. 117) Ale pozdější badatelé už o představě, že vazbová analýza vyžaduje abstraktní hierarchii alel a lokusů v genomu, ale ne nutně identickou fyzickou hierarchii, pochybují a poukazují na nekonzistenci mezi fyzikálním pořadím genů na chromozomu a pořadím lokusů zjištěným z vazbové analýzy. (Sarkar 1998, s. 130)

<sup>206</sup> Offerman, C. A. The position effect and its bearing on genetics. *Bull. Acad. Sci. U. R. S. S., Ser. Biol.*, 1935, 7: 159–170.

typu, což se dá ověřit na mutantech, kteří mají různě podmíněný fenotyp b.)<sup>207</sup>

V debatě o pseudoalelismu, popsané v samostatné kapitole, se vyjevilo zoufalé přešlapování genetiků nad stávající podobou genu. Pseudoalelismus ukázal, že pro genetiky nebylo snadné vyrovnat se s významem pozice a že mnozí věřili, že přístup klasické genetiky (kombinatorické zacházení s „černou skříňkou“) může pseudoalelismus vysvětlit. Na velkou vůli genetiků držet se zavedeného způsobu uvažování o genech ukazuje R. Goldschmidt, který se ho opustit nebojí. Pro Goldschmidta ztrácí v situaci, kdy je možné vymezovat v genu vnitřní hranice a není možné jasně stanovit hranice mezi geny, povaha jednotlivých genů svůj význam. Pozičnímu efektu připisuje mnohem důležitější roli než ostatní genetikové, protože fungování genů odvozuje právě od jejich postavení. Genům samotným tím upírá jejich svébytnost. V jeho pohledu nejsou geny nositeli vlastností, představují pouhé kombinatorické jednotky, u kterých záleží jen na jejich uspořádání. Právě ve zdůraznění pozice jako podstaty genu lze vidět počátek konce tradičního genu – nositele vlastnosti. Goldschmidta si můžeme cenit pro odvalu, s jakou vykročil za hranice běžných úvah o genu. Pro svoje názory se sice ocitl v roli excentrika a jisté sympatie k jeho počínání projevila snad jen B. McClintocková, nicméně pozdější osudy genu daly Goldschmidtovým myšlenkám v mnohém za pravdu.

Na význam lineárního uspořádání genů, resp. jejich částí narazila již začátkem 30. let subgenová hypotéza. Představa, že jsou geny složené z po sobě jdoucích subgenů, přičemž některé subgeny mohou být sdíleny, naznačila, že změna v umístění genu zmůže stejně jako změna tohoto genu samotného, protože je to totéž. Jak podotýká H. J. Muller, myšlenka, že je sled (uspořádání) tím zásadním, se mohla prosadit až po zamítnutí tetranukleotidové hypotézy. Když se totiž prokázalo, že je transformujícím principem DNA, vyvstala otázka, jak může mít takový vliv látka tolik odlišná od enzymů. Teprve když se DNA začala pokládat za řetězec různě seřazených nukleotidů, začala být přijatelná představa, že je sled nukleotidů tím, na čem záleží. (Muller 1966, s. 504)<sup>208</sup>

Shrme-li to, co bylo dosud řečeno o potížích klasické genetiky, ukáže se následující obrázek. Anomálie, tj. odchylky vyžadující zásah do paradigmatu, zproblematizovaly klasické pojetí genu jako nositele vlastnosti a vypovídaly o tom, že podstatou genu je jeho pozice. První zásadní anomálií, která ukázala na stěžejní význam pozice, byla vazba genů. (Síla této vazby určovala vzájemnou pozici.) S vazbou genů souvisel poziční efekt, zprvu považovaný

---

<sup>207</sup> Jak podotýká E. A. Carlson (1959), Offermannovo předvídání pseudoalelismu nepočítalo s tím, že by sousední geny pseudoalelické řady vznikly duplikací.

<sup>208</sup> Subgenová hypotéza byla zformulovaná v době, ve které málokdo pochyboval o proteinové povaze genu. V úvahách o uspořádání jí tetranukleotidová hypotéza „nepřekážela“.

za zajímavý jev, avšak bez výraznějšího dopadu na genetické úvahy. Tento pohled se pokusil změnit R. Goldschmidt, který naopak z okrajového jevu učinil podstatu dědičnosti. Poziční efekt pro něj znamenal tolik, že geny pracují „na celém chromozomu“ a že to důležité je uspořádání lokusu. Pochopení genu jako kombinatorické jednotky však nebylo slučitelné s původní představou genu – nositele vlastnosti. Přijetí pozice jako základu genu nakonec v polovině 20. století vedlo k tomu, že se pojem gen rozplynul v uspořádání pozic (pořadí bází v DNA).

Jak už bylo výše naznačeno, spatřovala morganovsko-mendelovská genetika dlouhodobý úkol v odhalení chemické podstaty genu a způsobu jeho účinku. Pootevřít tuto „černou skříňku“ se v polovině 20. století skutečně podařilo, ale nikoliv zásluhou klasických genetických postupů. Vysvětlení přišlo z jiných oborů, na jejichž základech následně vyrostla molekulární genetika. V tomto ohledu se vývoj genetiky odchyluje od Kuhnovy představy vývoje vědeckého oboru. (Po nahromadění anomálií, které se nedají začlenit do stávajícího pojetí skutečnosti, má podle Kuhna nastat mimořádná věda a následně dojít k zásadnímu zvratu v oboru, tj. ke změně paradigmatu.) Genetika je zvláštní tím, že řešení ožehavých otázek přišlo zvenčí.

Kořeny molekulární genetiky je třeba hledat především ve fyzice, konkrétně v kvantové mechanice. Jeden ze zakladatelů kvantové mechaniky Pascual Jordan hovořil o kvantové biologii.<sup>209</sup> (Morange 2000, s. 19) Očima kvantové mechaniky se na gen a jeho mutace dívala fágová skupina v čele s Maxem Delbrückem. Volba jednoduchého fága, který stál podle Delbrücka na půl cesty mezi pouhou chemickou molekulou a mezi živým (protože vykazoval reprodukci), zpřístupnila genetiku fyzikálně založeným vědcům. (Fox-Keller 1983, s. 5) Zájem fyziků o dění v genetice podpořila také kniha E. Schrödingera *What is Life?*, ve které Schrödinger mj. označuje de Vriesovu teorii mutací za kvantovou teorii biologie a mutace vysvětluje jako kvantové skoky v genové molekule. (Schrödinger 1944, české vydání z roku 2004, s. 67)

Další oblastí, která přispěla k molekulárně genetickému stylu bádání, byla biochemie.

---

<sup>209</sup> Richard H. Beyler Targeting the Organism: The Scientific and Cultural Context of Pascual Jordan's Quantum Biology, 1932–1947. *Isis*, 1996, 87: 248–273.

Jordan se zabýval mj. replikací genů a snažil se vysvětlit přitahování identických molekul. L. Pauling a M. Delbrück jeho názory odmítali. (Vysvětlovali přitahování identických molekul strukturální komplementaritou na submolekulární úrovni.)

Pauling, L., Delbrück, M. The Nature of the Intermolecular Forces Operative in Biological Processes. *Science*, 1940, 92: 77–79.

Ve 20. letech se biochemie posunula od koloidní teorie (podle které neexistují velké molekuly, pouze agregáty malých molekul) k makromolekulární teorii Hermanna Staudingera. (Morange 2000, s. 12) Podle ní makromolekuly existují a můžeme se v nich setkat jak se silnými, tak se slabými vazbami. Teorie předpokládá, že atomy makromolekul jsou při sobě drženy silnými (kovalentními) vazbami, v tomto smyslu jde o „normální“ molekuly. Ty jsou díky přítomnosti slabých vazeb navíc schopné měnit svůj stav. Zásadní místo měl v biochemii výzkum proteinů (mj. jejich purifikace a krystalizace), včetně enzymů a sledování jejich kinetické aktivity. Cenný nástroj ke studiu organismů poskytovala imunochemie (spojená hlavně s Karlem Landsteinerem). Výzkumy chemických vazeb Linuse Paulinga pomohly vysvětlit interakce mezi makromolekulami a trojrozměrnou strukturu proteinů a celkově přispěly k redukci specifičnosti na fyziku a chemii. (Morange 2000, s. 15)

Genům se připisovalo tolik vlastností a schopností, že bylo obtížné vidět v nich pouhou chemickou sloučeninu. Geny spíše odpovídaly malým organismům, které zařídí vše potřebné. (Fox-Keller 2000). Jak ukázala disertace, často se poukazovalo na spojitost mezi působením genů a enzymů, které byly také pokládány za velmi „schopné“ a složité. Tyto představy vycházely ze srovnávání vývoje zygot s lišícími se geny. (Stern 1936) Výraznou vlastností enzymů i genů byla jejich specifičnost. (Vědělo se, že enzymy působí jen na určitý substrát a že vykonávají pouze určitou funkci.) Výzkumy navíc naznačovaly, že geny ovlivňují rychlost předpokládaných reakcí, přičemž bylo známo, že enzymy mají schopnost ovlivňovat rychlost reakce. Právě tato vlastnost mohla podpořit představu, že geny jsou enzymy, případně že působí jejich prostřednictvím.

V neposlední řadě byla pro molekulární genetiku zásadní inspirace informatikou. (Fox-Keller 2003, s. 121) V molekulární genetice se místo nositelů dědičnosti hovoří o genetické informaci a z působení genu se stává problém kódování.<sup>210</sup> Podle S. Sarkarové sehrály při „objevení“ informace jako konceptu užívaného molekulární genetikou zásadní roli poznatky o párování bází. Párování bází totiž podle ní nabídlo spíše symbolický než fyzikální či chemický výklad vztahu mezi vlákny DNA, resp. mezi DNA a jinou molekulou. (Sarkar 1998, s. 139)

---

<sup>210</sup> Tato přirovnání využívá mj. Schrödinger, který hovoří o alelách jako různých „verzích“ či „čteních“ téhož místa v chromozomovém kódu. (Schrödinger 1944, podle českého vydání z roku 2004, s. 77) „Chromozomy mají v sobě nějak uložen kód vzorce celého budoucího vývoje jedince a jeho fungování v dospělosti. ... Termín kód je ovšem příliš úzký. Chromozomové struktury slouží totiž zároveň jako nástroj k uskutečňování vývoje, který předurčují. Jsou mocí zákonodárnou a výkonnou – nebo v jiném podobenství plánem architekta i dílem stavitele vjednom.“ (Schrödinger 1944, citováno podle českého vydání z roku 2004, s. 53)



Ve vývoji genetiky sice nedošlo ke skutečné revoluci vycházející z oboru samotného, nicméně se v něm potvrzuje jiná Kuhnova myšlenka: Nové paradigma přichází a obor se proměňuje, aniž to vědci postřehnou. Neboli změny paradigmat („revoluce“) jsou neviditelné. Rozpuštění genu a mendelovské genetiky splynulo s nástupem molekulární genetiky, takže bylo obtížné ho zaregistrovat, a genetické tak pokládají molekulární genetiku za pokračování svého výzkumu, nevšímajíc si obrovské propasti mezi oběma obory. Gen, který byl středobodem genetického bádání, sice vznikající molekulární genetika rozmělnila, ale zcela neodstranila. (O jednoduché mendelovské pojetí genu se stále opírá sociobiologie, která nebere v úvahu, že interakce jednotlivých genů zásadně mění jejich uplatnění.) Samotná genetika přetrvala i po této „revoluci“ a gen jako by zde zůstal „na věčnou památku.“

Připomeneme-li ještě jednou rané úvahy W. Johannsena, byl gen již na samém počátku genetiky pochopený jako výpověď o rozdílu. Tento pohled je blízký informatickému myšlení, uvážíme-li, že se informace měří rozdílem. S molekulární genetikou přichází přesvědčení, že je genetická informace uložena digitálně – jako text, u něhož záleží na seřazení volně kombinovatelných znaků. Gen pro molekulární genetiky přestává být faktorem (činitelem), jehož působení má chemickou povahu, ale stává se záznamem, který má povahu informatickou. (Neubauer In Markoš 2003, s. 13) Jak říká J. Zrzavý (1998), gen není DNA, DNA je pouze papír, na němž je zapsána nějaká informace. Právě molekulární genetika, která se v polovině 20. století přiklonila k digitálnímu pojetí genu, mohla docenit práci R. Goldschmidta, jehož myšlenky byly v klasické genetice jen málokdy pokládány za něco víc než za kuriózní nápady.

## 11. Použitá literatura

1. Agol, I. J. Step-allelomorphism in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1931, 16: 254–266.
2. Allen, G. E. Thomas Hunt Morgan and the Influence of Mechanistic Materialism on the Development of the Gene Concept 1910–1940. *American Zoologist*, 1983, 23 (4) The Place of Thomas Hunt Morgan in American Biology: 829–843.
3. Altenburg, E., Muller, H. J. The genetic basis of truncate wing, an inconstant and modifiable character in *Drosophila*. *Genetics*, 1920, 5: 1–59.
4. Armstrong, H. E., Armstrong, E. F. Studies on Enzyme Action. X. The Nature of Enzymes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, 1907, 79 (533): 360–365.
5. Bartlett, H. H. The Status of the Mutation Theory, with Special Reference to *Oenothera*. *The American Naturalist*, 1916, 50 (597): 513–529.
6. Bateson, W. The Methods and Scope of Genetics. Cambridge, Cambridge University Press, 1908.
7. Beadle, G. W. What Is a Gene? *AIBS Bulletin*, 1955, 5 (5): 15–15.
8. Beadle, G. W., Ephrussi, B. Development of Eye Colors in *Drosophila*: Transplantation Experiments with Suppressor of *Vermilion*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1936, 22 (9): 536–540.
9. Beadle G. W., Tatum E. L. Genetic Control of Biochemical Reactions in *Neurospora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1941, 27 (11): 499–506.
10. Beadle, G. W., Tatum, E. L. Genetic Control of Developmental Reactions. *The American Naturalist*, 1941, 75 (757): 107–116.
11. Benzer, S. Fine Structure of a Genetic Region in Bacteriophage. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 1955, 41 (6): 344–354.
12. Bridges, C. B., Mohr, O. L. The Inheritance of the Mutant Character „Vortex“. *Genetics*, 1919, 4: 283–305.
13. Burnet, M. The Newer Approach To Immunity And Its Bearing On Medicine And Biology. *The British Medical Journal*, 1954, 2 (4881): 189–193.
14. Campbell, D. H., Garvey, J. S. Factors Involved in Antibody Formation. *The Journal of Infectious Diseases*, 1960, 107 (1): 15–28.

15. Campos-Ortega, J. A. The Genetics of the *Drosophila Achaete-Scute* Gene Complex: a Historical Appraisal. *Int. J. Dev. Biol.*, 1998, 42: 291–297.
16. Carlson, E. A. Comparative Genetics of Complex Loci. *The Quarterly Review of Biology*, 1959, 34 (1): 33–67.
17. Casey, T. L. Variation Versus Mutation. *Science, New Series*, 1906, 23 (590): 632–632.
18. Caspari, E.: Pleiotropic Gene Action. *Evolution*, 1952, 6 (1): 1–18.
19. Castle, W. E. The Inconstancy of Unit-Characters. *The American Naturalist*, 1912, 46 (54): 352–362.
20. Castle, W. E. Simplification of Mendelian Formulae. *The American Naturalist*, 1913, 47: 180.
21. Castle, W. E. The Gene Theory in Relation to Blending Inheritance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1933, 19 (12): 1011–1015.
22. Clausen, R. E., Collins, J. R. The inheritance of ski wings in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1922, 7: 385–425.
23. Conklin, E. G. The Mutation Theory from the Standpoint of Cytology. *Science, New Series*, 1905, 21 (536): 525–529.
24. Crawford, I. P., Yanofsky, C. The Formation of a New Enzymatically Active Protein as a Result of Suppression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1959, 45 (8): 1280–1287.
25. Darwin, Ch. On the Origin of Species by Means of Natural Selection. London, John Murray, 1859.
26. Delbrück, M. Spontaneous Mutations of Bacteria. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 1945, 32 (2) Special Number – Conference on Gene Action in Micro-Organisms: 223–233.
27. Demerec, M. What is a gene? *Journal of Heredity*. 1933, 24: 368–378.
28. Demerec, M. Unstable Genes. *Botanical Review*, 1935, 1 (7): 233–248.
29. Demerec, M. What is a gene?- Twenty years later. *The American Naturalist*, 1955, 89 (844): 5–20.
30. Doudney, C. O., Wagner, R. P. Genetically Conditioned Metabolic Antagonism and Suppressor Action in *Neurospora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1955, 41 (6): 364–369.

31. Dubinin, N. P., Sidoroff, B. N. Relation between the Effect of a Gene and Its Position in the System. *The American Naturalist*, 1934, 68 (717): 377–381.
32. Duncan, I., Montgomery, G. Edward B. Lewis and the *Bithorax* Complex: Part II. From *cis-trans* Test to the Genetic Control of Development. *Genetics*, 2002, 161: 1–10.
33. East, E. M. The Mendelian Notation as a Description of Physiological Facts. *The American Naturalist*, 1912, 46 (551): 633–655.
34. East, E. M. The Concept of the Gene. In Proceedings of the International Congress of Plant Sciences, Ithaca New York, Menasha, George Banta Publishing Co., 1929, 889–895.
35. Eastwood, A. The Nature of Antibodies. *The Journal of Hygiene*, 1933, 33 (2): 259–281.
36. Ehrlich, P. Side-chain theory. On Immunity with Special Reference to Cell Life. *Proceedings of the Royal Society (London)*, 1900, 66: 424–448.
37. Emerson, R. A. Simplified Mendelian Formulae. *The American Naturalist*, 1913, 47 (557): 307–311.
38. Emerson, S. A Physiological Basis for Some Suppressor Mutations and Possibly for One Gene Heterosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1948, 34 (2): 72–74.
39. Falk, K. G. A Chemical Study of Enzyme Action. *Science, New Series*, 1918, 47 (1218): 423–429.
40. Falk, K. G. The Mechanism of Enzyme Actions. *Science, New Series*, 1935, 81 (2107): 471–475.
41. Falk, R., Schwartz, S. Morgan's Hypothesis of the Genetic Control of Development. *Genetics*, 1993, 134 (3): 671–374.
42. Fox-Keller, E. A Feeling For The Organism. Freeman and Company, New York, San Francisco, 1983, ISBN 0-7167-1433-7.
43. Fox-Keller, E. The Century of the Gene. Cambridge, Massachusetts, London, England, Harvard University Press, 2000, ISBN 0-674-00372-1.
44. Fox-Keller, E. Making Sense of Life. Cambridge, Massachusetts and London, England, Harvard University Press, 2003, ISBN 067401250X.
45. Frost, H. B. The Different Meanings of the Term "Factor" as Affecting Clearness in Genetic Discussion. *The American Naturalist*, 1917, 51 (604): 244–250.
46. Fry, I. The origins of research into the origins of life. *Endeavour*, 2006, 30 (1): 24–28.

47. Galdston, I. Ehrlich, Biologist of Deep and Inspired Vision. *The Scientific Monthly*, 1954, 79 (6): 395–399.
48. Gates, R. R. Heredity and Mutation as Cell Phenomena. *American Journal of Botany*, 1915, 2 (10): 519–528.
49. Gates, R. R. The Mutation Theory and the Species-Concept. *The American Naturalist*, 1917, 51 (610): 577–595.
50. Gates, R. R. The Cytological Basis of Mutations. *The American Naturalist*, 1931, 65 (697): 97–120.
51. Glass, B. In Pursuit of a Gene. *Science, New Series*, 1957, 126 (3276): 683–689.
52. Goldschmidt, R. Experimental Intersexuality and the Sex-Problem. *The American Naturalist*, 1916, 50 (600): 705–718.
53. Goldschmidt, R. Genetic Factors and Enzyme Reaction. *Science, New Series*, 1916, 43 (1099): 98–100.
54. Goldschmidt, R. The Theory of the Gene. *The Scientific Monthly*, 1938, 46 (3): 268–273.
55. Goldschmidt, R. On Spontaneous Mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1944, 30 (10): 297–299.
56. Goldschmidt, R. Marginalia to McClintock's Work on Mutable Loci in Maize. *The American Naturalist*, 1950, 84 (819): 437–455.
57. Goldschmidt, R. „Repeats“ and the Modern Theory of the Gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1950, 36 (7): 365–368.
58. Goldschmidt, R. Different Philosophies of Genetics. *Science, New Series*, 1954, 119, (3099): 703–710.
59. Gowen, J. W. Mutation, Chromosome Non-Disjunction and the Gene. *Science, New Series*, 1928, 68 (1757): 211–212.
60. Green, M. M. Pseudoallelism at the *vermilion* locus in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1954, 40 (2): 92–99.
61. Green, M. M. Pseudoallelism and the Gene Concept. *The American Naturalist*, 1955, 89 (845): 65–71.
62. Grüneberg, H. The Causes of Asymmetries in Animals. *The American Naturalist*, 1935, 69 (723): 323–343.

63. Grüneberg, H. An analysis of the pleiotropic effects of a new lethal mutation in the rat (*Mus norvegicus*). *Proceedings of the Royal Society of London: Series B*, 1938, 125: 123–144.
64. Gulick, A. What are the Genes? I. The Genetic and Evolutionary Picture. *The Quarterly Review of Biology*, 1938, 13 (1): 1–18.
65. Hájková, J. Teorie dědičnosti a koncepce druhu v díle Ch. Darwina, A. Weismanna a H. de Vriese: *diplomová práce*. Praha: Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, 2006, 94 l., vedoucí diplomové práce Jan Havlíček.
66. Haskins, F. A., Mitchell, H. K. An Example of the Influence of Modifying Genes in *Neurospora*. *The American Naturalist*, 1952, 86 (829): 231–238.
67. Haurowitz, F. Biological Problems and Immunochemistry. *The Quarterly Review of Biology*, 1949, 24 (2): 93–101.
68. Heidelberger, M. Immunochemical Approaches to Biological Problems. *The American Naturalist*, 1943, 77 (770): 193–198.
69. Horowitz, N. H., Bonner, D., Mitchell, H. K., Tatum, E. L., Beadle, G. W. Genic Control of Biochemical Reactions in *Neurospora*. *The American Naturalist*, 1945, 79 (783): 304–317.
70. Houlahan, M. B., Mitchell, H. K. A Suppressor in *Neurospora* and Its Use as Evidence for Allelism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1947, 33 (8): 223–229.
71. Hrubý, K. Genetika. Praha, Nakladatelství Československé akademie věd, 1961.
72. Chovnick, A. Fox, A. S. Immunogenetic Studies of Pseudoallelism in *Drosophila melanogaster*. I. Antigenic Effects of the *Lozenge* pseudoalleles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1953, 39 (10): 1035–1043.
73. Churchill, F. Wilhelm Johannsen and the Genotype Concept. *Journal of the History of Biology*, 1974, 7: 5–30.
74. Irwin, M. R. Immunological Studies in Embryology and Genetics. *The Quarterly Review of Biology*, 1949, 24 (2): 109–123.
75. Ives, P. T. The Importance of Mutation Rate Genes in Evolution. *Evolution*, 1950, 4 (3): 236–252.
76. Jerne, N. K. The Natural-Selection Theory of Antibody Formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1955, 41 (11): 849–857.

77. Johannsen, W. Elemente der Exakten Erblchkeitslehre. Jena, Gustav Fischer, 1909.
78. Johannsen, W. The Genotype Conception of Heredity. *The American Naturalist*, 1911, 45 (531): 129–159.
79. Johnson, K. A., Goody, R. S. The Original Michaelis Constant: Translation of the 1913 Michaelis-Menten Paper. *Biochemistry*, 2011, 50 (39): 8264–8269.
80. Johnston, O., Winchester, A. M. Studies on Reverse Mutations in *Drosophila melanogaster*. *The American Naturalist*, 1934, 68 (717): 351–358.
81. Klotz, I. M. Number Mysticism in Scientific Thinking. *The Mathematical Intelligencer*, 1995, 17 (1): 43–51.
82. kolektiv autorů Theories Of Enzyme Action. *The British Medical Journal*, 1929, 1 (3560): 610–611.
83. Komai, T. Semi-Allelic Genes. *The American Naturalist*, 1950, 84 (818): 381–392.
84. Kubitschek, H. E. The Error Hypothesis of Mutation. *Science, New Series*, 131 (3402): 730.
85. Kuhn, T. S. The Structure of Scientific Revolutions. University of Chicago Press, Chicago, 1962.
86. Lancefield, D. E. An Autosomal Bristle Modifier, Affecting a Sex-Linked Character. *The American Naturalist*, 1918, 52 (620/621): 462–464.
87. Landsteiner, K. The Specificity of Serological Reactions. Cambridge, Mass., Harvard University Press, 1945.
88. Laughnan, J. R. On the Designation of Closely Linked Genes with Similar Effects. *The American Naturalist*, 1952, 86 (827): 109–111.
89. Laughnan, J. R. Structural and Functional Bases for the Action of the A Alleles in Maize. *The American Naturalist*, 1955, 89 (845): 91–103.
90. Lebedeff, G. A. Interaction of *ruffled* and *rounded* genes of *Drosophila virilis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1932, 18 (5): 343–349.
91. Lederberg, J. Genes and Antibodies. *Science, New Series*, 1959, 129 (3364): 1649–1653.
92. Lein, J., Lein, S. B. Studies on a Suppressor of Non-Allelic Acetate-Requiring Mutants of *Neurospora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1952, 38 (1): 44–48.
93. Lewis, D. Structure of the incompatibility gene: I. Spontaneous mutation rate. *Heredity*, 1948, 2: 219–236.

94. Lewis, D. Structure of the incompatibility gene: II. Induced mutation rate. *Heredity*, 1949, 3: 339–355.
95. Lewis, E. B. Some Aspects of Position Pseudoallelism. *The American Naturalist*, 1955, 89 (845): 73–89.
96. Lewis, E. B. Genes and Developmental Pathways. *American Zoologist*, 1963, 3 (1): 33–56.
97. Lillie, F. R. The Gene and the Ontogenetic Process. *Science*, 1927, 66 (1712): 361–368.
98. Lipman, C. B. The Origin of Life. *The Scientific Monthly*, 1924, 19 (4): 357–367.
99. Mackenzie, K., Muller, H. J. Mutation Effects of Ultra-Violet Light in *Drosophila*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, 1940, 129 (857): 491–517.
100. Mampell, K. High Mutation Frequency in *Drosophila pseudoobscura*, Race B. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1943, 29 (5): 137–144.
101. Manwaring, W. H. The Enzyme Theory of Antibody Formation. *The Scientific Monthly*, 1927, 25 (4): 362–369.
102. Mareš, F. Život – tvůrčí síla. Praha, Neklan, 1992, ISBN X06065.
103. Mayr, E. The Growth of Biological Thought: Diversity, Evolution and Inheritance. Cambridge Massachussetts, Belknap Press of Harvard University Press, 1982, ISBN 0-674-27225-0.
104. McClintock, B. Mutable Loci in Maize. *Carnegie Inst. Yearb.*, 1948, 47: 155–169.
105. McClintock, B. The Origin and Behavior of Mutable Loci in Maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1950, 36 (6): 344–355.
106. McClintock, B. Chromosome Organization and Genic Expression. *Cold Spring Harb. Symp Quant. Biol.*, 1951, 16: 13–47.
107. McElroy, W. D., Swanson, C. P. The Theory of Rate Processes and Gene Mutation. *The Quarterly Review of Biology*, 1951, 26 (4): 348–363.
108. Mendel, G. Versuche über Pflanzenhybriden. In *Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn*, 1866, IV: 3–47.
109. Merriam, C. H. Is Mutation a Factor in the Evolution of the Higher Vertebrates? *Science, New Series*, 1906, 23 (581): 241–257.



110. Mitchell, M. B., Mitchell, H. K. Observations on the Behavior of Suppressors in *Neurospora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1952, 38 (3): 205–214.
111. Morange, M. A history of molecular biology. Cambridge, Massachusetts and London, England, Harvard University Press, 2000, (3. vydání), ISBN 0-674-00169-9.
112. Morgan, T. H. What are „Factors“ in Mendelian Interpretation? *American Breeders Association Reports*, 1909, 5: 365–368.
113. Morgan, T. H. Sex-limited inheritance in *Drosophila*. 1910, *Science*, 32: 120–122.
114. Morgan, T. H. Factors and Unit Characters in Mendelian Heredity. *The American Naturalist*, 1913, 47 (553): 5–16.
115. Morgan, T. H. Simplicity versus adequacy in Mendelian formulae. *The American Naturalist*, 1913, 47: 372 – 374.
116. Morgan, T. H. The Constitution of the Hereditary Material. *Proc. Amer. Phil. Soc.*, 1915, 217: 143–153.
117. Morgan, T. H. The Theory of the Gene. *The American Naturalist*, 1917, 51 (609): 513–544.
118. Morgan, T. H. Concerning the Mutation Theory. *The Scientific Monthly*, květen 1918, 6 (5): 385–405.
119. Morgan, T. H. Evolution by Mutation. *The Scientific Monthly*, červenec 1918, 7 (1): 46–53.
120. Morgan, T. H. The Physical Basis of Heredity. Philadelphia, Lippincott, 1919.
121. Morgan, T. H. Genetics and the Physiology of Development. *The American Naturalist*, 1926, 60 (671): 489–515.
122. Morgan, T. H. The Theory of the Gene. New Haven, Yale University Press, 1926.
123. Morgan, T. H., Sturtevant, A. H., Muller, H. J., Bridges, C. B. The Mechanism of Mendelian Heredity. New York, Henry Holt and Company, 1915.
124. Morgan, W. T. J. A Conception of Immunological Specificity. *The Journal of Hygiene*, 1937, 37 (3): 372–383.
125. Muller, H. J. Variation Due to Change in the Individual Gene. *The American Naturalist*, 1922, 56 (642): 32–50.

126. Muller, H. The Gene as the Basis of Life. In Duggar, B.M. (ed.) *Proceedings of the International Congress of Plant Sciences*. George Banta, Menasha, Wisconsin, 1929, 917–918.
127. Muller, H. J. Types of Visible Variations Induced by X-rays in *Drosophila*. *Genetics*, 1930, 22: 299–334.
128. Muller, H. J. Further Studies on the Nature and Causes of Gene Mutations. In *Proceedings of the 6th International Congress of Genetics*, Ithaca, New York, Genetics Society of America, 1932, 213–255.
129. Muller, H. J. The Gene. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, 1947, 134 (874): 1–37.
130. Muller, H. J. The Gene Material as the Initiator and the Organizing Basis of Life. *The American Naturalist*, 1966, 100 (915) Special One Hundredth Anniversary Year Issue: 493–517.
131. Muller, H. J., Prokofyeva, A. A. The Individual Gene in Relation to the Chromomere and the Chromosome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1935, 21 (1): 16–26.
132. Neubauer, Z. Hledání ztraceného genu cestou biologické hermeneutiky. In Markoš, A. *Tajemství hladiny, Hermeneutika živého*. Praha, Dokořán, 2003, ISBN 80-86569-67-5, 11–32.
133. Onslow H. A Contribution to Our Knowledge of the Chemistry of Coat-Colour in Animals and of Dominant and Recessive Whiteness. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, 1915, 89 (609): 36–58.
134. Ortmann, A. E. The Fallacy of the Mutation Theory. *Science, New Series*, 1906, 23 (593): 746–748.
135. Ortmann, A. E. The Mutation Theory Again. *Science, New Series*, 1906, 24 (607): 214–217.
136. Raffel, D., Muller, H. J. Position Effect and Gene Divisibility Considered in Connection with Three Strikingly Similar *Scute* Mutations. *Genetics*, 1940, 25: 541–583.
137. Pontecorvo, G. Gene Structure and Action in Relation to Heterosis. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, 1955, 144 (915): 171–177.
138. Portin, P. The concept of the gene: short history and present status. *The Quarterly Review of Biology*, 1993, 68 (2): 173–223.

139. Ryan, F. J., Lederberg, J. Reverse-Mutation and Adaptation in Leucineless *Neurospora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1946, 32 (6): 163–173.
140. Sapp, J. Beyond the Gene. Cytoplasmic Inheritance and the Struggle for Authority in Genetics. New York, Oxford University Press, 1987, ISBN 0195042069.
141. Sarkar, S. Genetics and Reductionism. Cambridge, Cambridge University Press, 1998, ISBN 0-521-63146-7.
142. Sax, K. Crossing-over and Mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1931, 17 (11): 601–603.
143. Serebrovsky, A. S. A General Scheme for the Origin of Mutations. *The American Naturalist*, 1929, 63 (687): 374–378.
144. Shull, G. H.: The „Presence“ and „Absence“ Hypothesis. *The American Naturalist*, 1909, 43 (511): 410–419.
145. Shull, G. H. Genetic Definitions in the New Standard Dictionary. *The American Naturalist*, 1915, 49 (577): 52–59.
146. Shull, G. H. The Word „Allele“. *Science, New Series*, 1935, 82 (2115): 37–38.
147. Schrödinger, E. Co je život? Duch a hmota. K mému životu. VUTIUM, Brno, 2004, ISBN: 80-214-3175-X.
148. Schultz, J., Bridges, C. B. Methods for Distinguishing between Duplications and Specific Suppressors. *The American Naturalist*, 1932, 66 (705): 323–334.
149. Schwartz, D. Speculations on Gene Action and Protein Specificity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1955, 41 (5): 300–307.
150. Smith, J. M. The Concept of Information in Biology. *Philosophy of Science*, 2000, 67 (2): 177–194.
151. Spiegelman, S. Kamen, M. D. Genes and Nucleoproteins in the Synthesis of Enzymes. *Science, New Series*, 104 (2712): 1946, 581–584.
152. Stadler, L. J. Spontaneous Mutation at the R Locus in Maize. II. Race Differences in Mutation Rate. *The American Naturalist*, 1948, 82 (807): 289–314.
153. Stadler, L. J. Spontaneous Mutation at the R Locus in Maize. III. Genetic Modification of Mutation Rate. *The American Naturalist*, 1949, 83 (808): 5–30.
154. Stadler, L. J. The Gene. *Science, New Series*, 1954, 120 (3125): 811–819.
155. Stephens, S. G. Summary, Synthesis and Critique. *The American Naturalist*, 1955, 89 (845): 117–122.

156. Stern, C. Genetics and Ontogeny. *The American Naturalist*, 1936, 70 (726): 29–35.
157. Stoesser, A. V. The Toxin-Antitoxin Union. *The Journal of Infectious Diseases*, 1931, 48 (3): 255–281.
158. Stormont, C. Linked Genes, Pseudoalleles and Blood Groups. *The American Naturalist*, 1955, 89 (845): 105–116.
159. Strauss, B. S. A Mechanism of Gene Interaction. *The American Naturalist*, 1955, 89 (846): 141–150.
160. Stroer, W. F. H. The Gene, Its Function and Its Meaning in Genetics. *The Quarterly Review of Biology*, 1936, 11 (1): 57–69.
161. Sturtevant, A. H. The Effects of Unequal Crossing Over at the *Bar* Locus in *Drosophila*. *Genetics*, 1925, 10: 117–147.
162. Sturtevant, A. H., Morgan, T. H. Reverse Mutation of the *Bar* Gene Correlated with Crossing over. *Science, New Series*, 1923, 57 (1487): 746–747.
163. Sturtevant, A. H., Schultz J. The Inadequacy of the Sub-Gene Hypothesis of the Nature of the *Scute* Allelomorphs of *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1931, 17 (5): 265–270.
164. Talmage, D. W. Immunological Specificity. *Science, New Series*, 1959, 129 (3364): 1643–1648.
165. Terao, H. On Reversible Transformability of Allelomorphs. *The American Naturalist*, 1917, 51 (611): 690–698.
166. Thompson, D. H. Evidence of Structure in the Gene. *The American Naturalist*, 1925, 59 (660): 91–94.
167. Thompson, D. H. The Side-chain theory of the structure of the gene. *Genetics*, 1931, 16: 267–290.
168. Treffers, H. P., Spinelli V., Belser N. O. A Factor or Mutator Gene Influencing Mutation Rates in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1954, 40 (11): 1064–1071.
169. Troland, L. T. The chemical origin and regulation of life. *Monist*, 1914, 24: 92–133.
170. Troland, L. T. Biological Enigmas and the Theory of Enzyme Action. *The American Naturalist*, 1917, 51 (606): 321–350.
171. Tyler, A. The role of fertilizin in the fertilization of sea-urchin eggs. *Biol. Bull.*, 1941, 81 (3): 364–374.

172. de Vries, H. The Mutation Theory. Chicago, The Open Court Publishing, 1909.
173. de Vries, H. Variation. In Seward, A. C. (ed.) Darwin and Modern Science. Essays in commemoration of the centenary of the birth of Charles Darwin and of the fiftieth anniversary of the publication of the Origin of Species. Cambridge, Cambridge University Press, 1909, 66–84.
174. de Vries, H. Intracellular Pangenesis. Chicago, Open Court Publishing, 1910.
175. de Vries, H. The Mutation Theory. *The Science News-Letter*, 1928, 13 (358): 105–106.
176. Wald, H. Cytological Studies on the Abnormal Development of the Eggs of the Claret Mutant Type of *Drosophila simulans*. *Genetics*. 1936, 21(3): 264–281.
177. Waletzky, E. The interaction of some Wing Mutants in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1939, 24: 8–14.
178. Waters, C. K. Genes Made Molecular. *Philosophy of Science*, 1994, 61 (2): 163–185.
179. Weismann, A. The Germ-Plasm. A Theory of Heredity. New York, Charles Scribner's sons, 1893.
180. Willstätter, R. Chemical progress. *Annual Reports on the Progress of Chemistry*, 1926, 23: 232–234.
181. Witkin, E. M., Kennedy, F. L. A Suppressor Mutation in *Escherichia coli*. *The American Naturalist*, 1951, 85 (821): 141–142.
182. Woodward, V. W. Mutation Rates of Several Gene Loci in *Neurospora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1956, 42 (10): 752–758.
183. Wright, S. Genetics and the Hierarchy of Biological Sciences. *Science, New Series*, 1959, 130 (3381): 959–965.
184. Zrzavý, J. O egoismu všeho živého. *Vesmír*, 1998, 77, 67 (2): 67–71.

#### **Internetové zdroje:**

[www.esp.org](http://www.esp.org)

[www.genetics.org](http://www.genetics.org)

[www.jstor.org](http://www.jstor.org)

[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)

<http://pubs.acs.org>

[www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)